

**BEITRÄGE
ZUR WERTBESTIMMUNG
VON TUBER ACONITI UND SEINEN
GALENISCHEN PRÄPARATEN**

Inauguraldissertation

**der medizinischen Fakultät der Universität Bern
zur Erlangung der Würde eines Doktor pharmaciae**

vorgelegt von

René Weil, Apotheker

von Gutenberg (Bern)

**BEITRÄGE
ZUR WERTBESTIMMUNG
VON TUBER ACONITI UND SEINEN
GALENISCHEN PRÄPARATEN**

Inauguraldissertation

**der medizinischen Fakultät der Universität Bern
zur Erlangung der Würde eines Doktor pharmaciae**

vorgelegt von

René Weil, Apotheker

von Gutenberg (Bern)



Auf Antrag von Herrn Prof. Dr. Mühlemann durch die medizinische Fakultät zum Druck als Dissertation genehmigt.

Der Dekan
der medizinischen Fakultät:

Prof. Dr. J. Dettling

Bern, den 15. Juli 1949.

Es sei mir gestattet, meinem verehrten Lehrer,

Herrn Prof. Dr. H. Mühlemann,

für die freundliche Unterstützung und die wohlwollende Förderung
der vorliegenden Arbeit den herzlichsten Dank auszusprechen.

I. EINLEITUNG

Die Stammpflanze der Tuber Aconiti ist Aconitum Napellus (Ranunculaceae). Nach der internationalen Vereinbarung von Brüssel (1902) wurde die Droge so definiert, dass nur die entstandenen Tochterknollen verwendet werden sollen. Man findet jedoch in der Handelsware stets einige Mutterknollen vor, die ebenfalls eine gewisse Wirksamkeit besitzen.

Als hauptwirksames Alkaloid enthält Tuber Aconiti und deren galenische Präparate Aconitin. Daneben findet man in der Droge noch die folgenden Alkaloide: Benzoylaconin, Aconin, Neopellin.

1937 wurde von *Freudenberg und Rogers*¹⁾ in einem amorphen «Handelsaconitin» neben den oben erwähnten noch die Alkaloide Napellin, Neolin, l-Sparteïn und l-Ephedrin nachgewiesen, allerdings nur in Spuren.

Die ersten Angaben über das Hauptalkaloid, Aconitin, erfolgten durch *Geiger, Hesse*²⁾ und von *Planta*³⁾.

Ein kristallines Aconitin wurde vermutlich erstmals durch *Groves*⁴⁾ im Jahre 1860 isoliert. Die ersten Untersuchungen über die Konstitution erfolgten durch *Wright* und andere, später durch *Dunstan* und Mitarbeiter, dann durch *Freund, Majima, Sugimoto* und *Morio* und die neuesten Arbeiten durch *Jacobs und Craig*⁵⁾.

*Henry*⁶⁾ unterscheidet zwei Gruppen von Aconitalkaloiden:

- a) die sogenannten Aconitine, welche Diacyl ester einer Reihe von Polyhydro-amino-alkoholen sind und sich durch hohe Toxizität auszeichnen;
- b) die sogenannten Atisine, welche Aminoalkohole sind und sich, wie das Aconin, durch sehr geringe Toxizität auszeichnen.

¹⁾ *Freudenberg und Rogers*, Journ. Amer. Chem. Soc. 58, 533 (1936) und 59, 2572 (1937).

²⁾ *Geiger, Hesse*, Annalen 7, 276 (1833).

³⁾ *von Planta*, Annalen 74, 257 (1850).

⁴⁾ *Groves*, Pharm. Journ. 8, 121 (1860).

⁵⁾ *T. A. Henry*, The Plant Alkaloids, Churchill-Verlag London (1949) 173.

⁶⁾ *T. A. Henry*, The Plant Alkaloids, Churchill-Verlag London 690 (1949).

Im Zusammenhang mit der Toxizität seien noch einige allgemeine Angaben darüber angeführt:

Aconitin ist sehr stark toxisch. Die Dosis von 1 mg Aconitin bei peroraler Verabreichung wirkt tödlich. Die Ph. H. V. schreibt daher eine Maximaldosis von 0,1 mg vor.

Die Letaldosen pro Kilogramm Körpergewicht sind, bei subkutaner Injektion (nach Henry ¹⁾) für

Frösche	0,05 bis 0,14 mg
Meerschweinchen	0,012 mg
Kaninchen	0,014 mg

Doch sind diese Dosen nicht unbedingt als Standard zu betrachten, da auch schon andere Werte erhalten worden sind ²⁾.

Verwendet wird Aconitin vor allem als Analgeticum und Antineuralgicum mit sehr starker Wirkung. Weitere Verwendungsgebiete für die Aconitpräparate ergeben sich aus ihrer diuretischen und anticongestiven Wirkung.

Toxische Dosen dagegen bewirken eine Atemlähmung und eine direkte toxische Wirkung auf das Herz.

Alle sensiblen Nervenenden werden zunächst gereizt, so dass ein Gefühl von Wärme, Brennen und Kribbeln entsteht. Später werden sie gelähmt, dies bis zur völligen Gefühllosigkeit des Einwirkungs-ortes. In ähnlicher Weise werden die Muskelnerven angegriffen; es treten zuerst Zuckungen und dann Lähmungen ein. Die Körpertemperatur ist oft herabgesetzt.

Benzoylaconin wirkt bedeutend schwächer. Aconin hat seine Toxizität noch mehr verloren und wirkt wie ein Herzstimulans und wie ein Antagonist des Aconitins ³⁾.

Die Toxizitätsverhältnisse zwischen Aconitin und seinen wichtigsten Nebenalkaloiden sind wie folgt:

Benzoylaconin: ca. 500 mal weniger toxisch als Aconitin.

Aconin: ca. 3500 bis 4000 mal weniger toxisch als Aconitin.

Da die früheren chemischen Bestimmungsmethoden wohl die Gesamtalkaloide in den Aconitpräparaten erfassten, dabei aber keinen

¹⁾ T. A. Henry, *The Plant Alkaloids*, Churchill-Verlag London, 690 (1949).

²⁾ Munch und Gittinger, *Journ. Americ. Pharm. Assoc.* 18, 17 (1929) und Chen, Anderson und Brown-Robbins, *Quart. Journ. Pharm.* 11, 84 (1938).

³⁾ T. A. Henry, *The Plant Alkaloids*, Churchill-Verlag London (1949), 690. R. Jaretsky, *Pharmacognosie*, 181 ff. (1937) Deutscher Apotheker-Verlag, Berlin.

Unterschied zwischen Aconitin und den anderen Basen feststellen konnten, ergab sich zwischen den chemischen Werten und der wahren physiologischen Wirkung sehr oft ein grosser Unterschied. Lange Zeit wurde angenommen, dass sich in der Pflanze praktisch nur Aconitin befinde und somit eine Extraktion mit anschliessender Titration genüge. Da aber die Toxizitätsbestimmungen bedeutend genauere Werte für Aconitin ergeben, musste angenommen werden, dass die Nebenalkaloide Benzoylaconin und Aconin, wie oben erwähnt, weniger wirksam sein müssen.

Es wurden daher schon früher Versuche unternommen, diese quantitativen Untersuchungen genauer zu detaillieren, um damit eine genauere Angabe über den wahren Wert der Droge und der Präparate zu erhalten.

Untersuchungen über die quantitativen Bestimmungsmethoden sind vor allem von *Cornwell und Jones* ¹⁾, *Gstirner* ²⁾, *van Bronkhorst* ³⁾ und *Baker und Jordan* ⁴⁾ ausgeführt worden, wobei erstmals von *Bronkhorst*, später noch von *Baker und Jordan* Bestimmungsmethoden angegeben wurden, welche auf den wahren Aconitinwert in den Gesamtalkaloiden schliessen liessen.

Wir haben in der vorliegenden Arbeit die beiden oben erwähnten Methoden ausprobiert. Die erhaltenen Resultate waren aber nicht befriedigend.

Da das Aconitin und vor allem die Aconitpräparate relativ häufig im Handel kombiniert mit anderen Präparaten anzutreffen sind, war es für uns von Interesse, eine genaue chemische Bestimmungsmethode auszuarbeiten, welche den toxikologischen Test ersetzen soll.

Dies um so mehr, als die toxikologische Untersuchung für den Apotheker in seiner Offizin mit biologischen Mitteln nicht sehr geeignet ist, eine chemische Methode aber besser angewendet werden kann.

Wir gingen dabei von der Tatsache aus, dass bei der Verseifung von Aconitin Benzoesäure und Essigsäure frei wird, bei der Verseifung von Benzoylaconin aber nur Benzoesäure.

Wir wollten nun untersuchen, ob es möglich sei, durch eine Wasserdampfdestillation die Essig- und die Benzoesäure aus dem

¹⁾ *Cornwell und Jones*, Pharm. Journ. 117, 197 (1926).

²⁾ *Gstirner*, Pharm. Zent. 73, 465 (1932).

³⁾ *van Bronkhorst*, Pharm. Weekbl. 72, 1058 (1935).

⁴⁾ *Baker und Jordan*, Journ. Amer. Pharm. Assoc. 25, 291 (1936).

Alkaloidgemisch abzutrennen und durch Titration dieser Säuren im aufgefangenen Destillat den Gehalt an Aconitin und Benzoylaconin zu bestimmen. Um dies genau feststellen zu können, musste aber vor der Wasserdampfdestillation das Aconin als praktisch unbedeutender Bestandteil von den übrigen Alkaloiden abgetrennt werden.

Um eine genaue Kontrolle bei der Ausarbeitung der Methode zu haben, sahen wir uns veranlasst, vorgängig den quantitativen Untersuchungen noch Benzoylaconin und Aconin in reiner Form herzustellen, da diese beiden im Handel nicht erhältlich sind. Auch in diesem Fall befriedigten die in der Literatur angegebenen Methoden nicht, und wir mussten deshalb vorerst eine günstigere Darstellungsmethode von Aconin und Benzoylaconin ausarbeiten.

Gleichsam als Prüfung auf die Richtigkeit der erhaltenen Resultate wurden nach Beendigung der chemischen Arbeiten noch toxiologische Bestimmungen an weissen Mäusen ausgeführt. Deren Ergebnisse deckten sich praktisch mit denjenigen unserer chemischen Methode.

II. DARSTELLUNG VON REINEM, KRISTALLINEM ACONITIN

Das verwendete Aconitin entsprach den Vorschriften der Ph. H. V. Als weitere Identitätsreaktionen wurden verwendet:

1. Reaktion nach *Brongea*¹⁾: Mit konzentrierter Schwefelsäure wird auf dem Wasserbad fünf Minuten lang erhitzt. Nach Zusatz von einem Kristall Resorcin wird während weiteren 20 Minuten auf dem Wasserbad erhitzt. Es bildet sich allmählich eine rötliche Färbung mit blaugrünlicher Fluoreszenz. Nach dem Erkalten wird mit gesättigter Sodalösung neutralisiert. Die Lösung ist farblos und bei Durchsicht ist eine schwach bläuliche Fluoreszenz festzustellen.
2. Nachweis der Benzoessäure: Es wird mit einigen Tropfen konzentrierter Schwefelsäure und Spiritus erhitzt. Nach Wasserzusatz ist der typische Geruch nach Benzoessäureäthylester festzustellen. Auch diese Reaktion ist nicht spezifisch, da Benzoylaconin auch auf diese Prüfung anspricht.
3. Nachweis der Essigsäure: Der Nachweis der Essigsäure gelingt mit den zur Verfügung stehenden kleinen Mengen nur durch Erhitzen einer wässrigen Lösung mit Hilfe des Geruches. Andere Reaktionen sprechen nicht an.
4. Schmelzpunkt: Dieser beträgt 188 bis 190°.
5. Ein Vergleich des kristallisierten Aconitins Ph. H. V. mit einer Standardsubstanz, wobei als solche kristallisiertes Aconitin Merck verwendet wurde, ergab unter dem Mikroskop, dass ersteres jeweils mit einigen amorphen Teilchen verunreinigt ist, die bei Aconitin Merck nicht vorhanden sind. Aus diesem Vergleich lässt sich auch der unscharfe Schmelzpunkt erklären, der nach Ph. H. V. zwar zulässig ist.

Nachdem Umkristallisationsversuche aus verschiedenen Lösungsmitteln keine guten Resultate ergaben, um aus diesem Aconitin ein

¹⁾ Mercks Reagenzienverzeichnis (1939), Darmstadt.

absolut reines Produkt herzustellen, wurde schliesslich folgendes Verfahren mit Erfolg angewandt:

Die Substanz wird in einem Gemisch von 90 % Methanol und 10 % Chloroform gelöst und durch eine Säule von Aluminiumoxyd (standardisiert nach Brockmann) durchfliessen gelassen. Nach mehrmaligem Nachspülen mit demselben Lösungsmittel wird die Lösung auf dem Wasserbade in einer Kristallisierschale bis auf einen kleinen Rest vorsichtig eingedampft. Dieser Rückstand wird nun bis zur völligen Verdunstung der Flüssigkeit offen stehen gelassen. Das nun auskristallisierte Aconitin wird 24 Stunden in einem Exsikkator über Phosphorpentoxyd getrocknet. Der Schmelzpunkt, auf einem Thieleblock bestimmt und nicht korrigiert, entspricht nun demjenigen von Aconitin Merck (198°). Nach den neuesten Angaben der Literatur¹⁾ soll der Schmelzpunkt für Aconitin bei 205° liegen. Es gelang uns jedoch nie, diesen Schmelzpunkt zu erreichen. Da die früheren Angaben sämtliche zwischen 190 und 198° liegen, ist anzunehmen, dass es sich bei dieser Angabe von 205° um einen korrigierten Schmelzpunkt handelt.

Da die kristallisierte Aconitinbase nicht mehr erhältlich war, sahen wir uns zur Fortsetzung der Versuche gezwungen, Aconitin. nitric. Merck zu verwenden. Dies war nicht besonders günstig, da die Überführung in die Base vermittels 10 %igem Ammoniak zu Verlusten von 30 bis 40 % führte. Die schwere Löslichkeit des Nitrates in Wasser an sich erfordert bereits eine beträchtliche Menge Lösungsmittel, und nach Zusatz von Ammoniak ist das Volumen der Lösung so beträchtlich, dass trotz mehrfachem Ausschütteln mit Aether Verluste nicht zu vermeiden sind.

Darstellung von Benzoylaconin

Erster Versuch zur Darstellung von Benzoylaconin nach H. Schulze²⁾

Die ersten, bedeutenden Vorversuche zur Darstellung von Abbauprodukten und Konstitutionsaufklärungen über Aconitin wurden von Schulze unternommen. Im Rahmen seiner Untersuchungen stellte Schulze ein Picroaconitinhydrobromid her, das identisch ist mit dem von uns gesuchten Benzoylaconinhydrobromid. Nach seinen Angaben wurde folgender Versuch unternommen:

¹⁾ T. A. Henry, *The Plant Alkaloids*, Churchill-Verlag London (1949), 675 ff.

²⁾ H. Schulze, *Archiv der Pharmacie*, 244, 181 ff. (1906).

0,5 g Aconitin wird mit 20 cm³ Wasser im Autoklaven 2½ Stunden lang auf 2 Atm. Druck erhitzt. Nach dieser Zeit ist das Aconitin vollständig gelöst. Der Inhalt des Kolbens wird mit Salzsäure bis zum schwachen Überschuss versetzt und auf ein kleines Volumen (etwa 3 bis 4 cm³) eingedampft. Diese konzentrierte Lösung wird nach dem Erkalten einmal mit Äther (etwa 10 cm³) ausgeschüttelt, um die geringe Menge der abgespaltenen Benzoesäure zu entfernen. Darauf wird die wässrige Lösung mit einer 5%igen Sodalösung alkalisch gemacht und fünfmal mit je 10 cm³ Äther ausgeschüttelt. Diese ätherischen Lösungen werden vereinigt, mit Natrium sulfuricum siccum getrocknet und im Vakuumexsikkator der Verdunstung überlassen. Das vermutliche Benzoylaconin bleibt als Firnis zurück, der völlig farblos ist. Dieser wird in 10%iger Bromwasserstoffsäure gelöst. Die stark gelbe Lösung wird auf 3 bis 4 cm³ eingengt und erkalten gelassen. Im Gegensatz zu den Angaben von *Schulze*, wo farblose, derbe Prismen entstehen sollten, kristallisierten allmählich stark gelbe, kleine Nadelchen aus.

Der Schmelzpunkt dieser abfiltrierten und über Phosphorpentoxid getrockneten Kristalle war sehr unscharf, da die Verbindung bei 254° zu sintern beginnt und bei 300° nicht geschmolzen ist, sondern eine Verkohlung eintritt. *Schulze* gibt in seiner Arbeit als Schmelzpunkt des Hydrobromids 232° an. Weitere Angaben waren nicht zu finden.

Dieses gelbe, unreine Benzoylaconinhydrobromid wurde in einer geringen Menge heissem Wasser gelöst und durch Abkühlung wieder ausgefällt. Trotz mehrerer solcher Umkristallisationen und Kochen der Lösung mit Carbo adsorbens blieb das Salz völlig gelb und ein Schmelzpunkt war unmöglich zu bestimmen, da bei 250° allmählich Verkohlung eintrat. Eine weitere Probe wurde zur Reinigung in Alkohol gelöst und durch Wasserzusatz wieder gefällt, da das Salz in Alkohol besser löslich ist als in Wasser. Auch dieser Reinigungsversuch ergab nur ein gelbliches, kristallines Salz, dessen Schmelzpunkt wieder unbestimmbar war, da die Verkohlung, wie vorher, bei 245° eintrat.

Nach diesen ersten, missratenen Darstellungen haben wir diese Methode mit dem Unterschied erneut versucht, dass an Stelle von 10%igem Acidum hydrobromicum ein Versuch mit 5%igem und ein weiterer Versuch mit 1%igem Acidum hydrobromicum ausgeführt wurde. Leider waren auch diese beiden Resultate unbefriedigend, da

jedes Mal gelbe Nadeln entstanden, welche trotz mehrfacher Umkristallisations- und Reinigungsversuche bei etwa 250° verkohlten.

Zweiter Versuch

Im Gegensatz zur Methode von *Schulze* wurden 0,5 g Aconitin-Base in einem kleinen Erlenmeyer in 20 cm³ Wasser suspendiert. Diese Suspension wurde während fünf Stunden im Autoklaven bei 2,5 Atü erhitzt. Nach dem Erkalten war völlige Lösung eingetreten. Diese Lösung wurde mit verdünnter Salzlösung angesäuert und zur Entfernung abgespaltener Benzoesäure mit 10 cm³ Äther ausgeschüttelt. Der Ätherrückstand wurde auf Benzoesäure geprüft, jedoch war die Reaktion negativ. Die wässrige Lösung wurde mit 10 %igem Ammoniak alkalisch gemacht und erneut fünfmal mit je 10 cm³ Äther ausgeschüttelt. Die erhaltene Ätherlösung wurde vorsichtig im Vakuum abgezogen, der Rückstand in Methanol aufgenommen und erneut im Vakuum abgezogen. Der erhaltene Rückstand wurde nun während 24 Stunden über Phosphorpentoxyd im Exsikkator getrocknet. Die getrocknete Substanz war weiss und amorph. Der Schmelzpunkt der Base betrug 176 bis 179°. Die Base wurde erneut in etwas Methanol aufgenommen und durch Wasserzusatz wieder ausgefällt. Trotz mehrerer solcher Versuche war keine kristalline Substanz zu erhalten. Der Schmelzpunkt der mehrmals gereinigten Base betrug schlussendlich 176 bis 177°. Es ist zu vermuten, dass es sich hier um ein Gemisch handelte, worin neben einem Grossteil von amorphem Aconitin ein sehr geringer Prozentsatz von Benzoylaconin enthalten war. Diese Annahme wurde durch einen Mischschmelzpunkt mit reinem Aconitin vom Schmelzpunkt 198° bekräftigt, indem dieser bei 179 bis 181° lag.

Dritter Versuch

Da nach den Angaben von *Cahn und Phipers*¹⁾ festgestellt worden war, dass häufig eine schonende Abspaltung von Azetylgruppen bei Durchlauf durch eine Aluminiumoxydsäule erfolgen kann, versuchten wir nun, auf diesem Wege Aconitin in Benzoylaconin überzu-

¹⁾ cit. nach *Zechmeister*: Die chromatographische Adsorptionsanalyse. Verlag J. Springer, Wien, 6 (1938).

führen. Dies um so mehr, als drastischere Methoden, wie wir später sehen werden, nicht nur die Azetylgruppe, sondern teilweise auch die Benzoylgruppe abspalten.

0,5 g Aconitin-Base wurde in 10 cm³ Chloroform gelöst. Diese Lösung wurde langsam auf eine Säule von Aluminiumoxyd (Merck standardisiert nach Brockmann) gegossen und nach völligem Benetzen der Säule mit einem Gummistopfen verschlossen. Die Lösung wurde in der Säule während 24 Stunden stehengelassen, wobei darauf geachtet wurde, dass die Oberfläche der Säule immer mit der Lösung völlig bedeckt war. Nach Ablauf der 24 Stunden wurde zur Kontrolle der Reaktion die Säule im ultravioletten Licht beobachtet, doch waren keine Zonen feststellbar. Die Aluminiumsäule wurde nun geöffnet, und nachdem die Lösung herausgelaufen war (Lösung 1), wurde die Säule erneut im ultravioletten Licht kontrolliert. Auch hier waren keine besonderen Merkmale feststellbar. Die Säule wurde nun mit einem Gemisch von 5 % Methanol und 95 % Chloroform eluiert und diese Flüssigkeit (Lösung 2) getrennt aufgefangen. Beide Lösungen wurden nun im Vakuum abdestilliert und die Rückstände über Phosphorpentoxyd im Exsikkator getrocknet. Von den ursprünglichen 0,5 g Substanz waren in der Lösung 1 0,49 g und in der Lösung 2 ein kaum wägbarer Rückstand vorhanden. Bei diesem Versuch war vor allem auffällig, dass beide Rückstände ohne vorherige Reinigung kristallin erhalten wurden. Die Schmelzpunkte der Substanz aus Lösung 1 und aus Lösung 2 betrugen 198°. Ein Mischschmelzpunkt beider Substanzen mit Aconitin ergab ebenfalls 198°, so dass auch dieser Versuch als misslungen angesehen werden muss, da es sich hier um völlig reines Aconitin handelte.

Wenn auch diese Methode nicht zu dem gesteckten Ziele führte, so hat sie doch den Vorteil, dass auf diesem Wege, wie schon früher angegeben wurde, mit minimalen Verlusten aus amorphem Aconitin völlig reines, kristallines Aconitin erhalten wird.

Da die Alkalinität des Aluminiumoxydes offensichtlich zu wenig stark war, um eine Abspaltung der Azetylgruppe zu bewirken, wurde nun versucht, die Abspaltung durch Zusatz von Magnesiumoxyd zu erreichen. Zu diesem Zweck wurden 5 g Magnesiumoxyd (ponderosum) mit 95 g Aluminiumoxyd möglichst gleichmässig verrieben, durch ein feines Sieb durchgelassen und erneut nochmals gleichmässig gemischt. In analoger Weise wie vorher wurden zwei Säulen bereitgestellt und je 0,5 g Aconitin gelöst in 10 cm³ Chloroform in

diese Säulen einlaufen gelassen; anschliessend wurden beide Säulen mit Gummistopfen verschlossen. Säule 1 wurde während 24 Stunden stehengelassen, Säule 2 während sechs Tagen. Dann wurden die Säulen mit einer Mischung von 5 % Methanol und 95 % Chloroform eluiert, wobei jeweils vier Fraktionen von je 20 cm³ aufgefangen wurden. Die erhaltenen Lösungen 1 bis 4 wurden vermittlels Vakuumdestillation vom Lösungsmittel befreit und einzeln untersucht. Dabei wurden folgende Schmelzpunkte erhalten:

Rückstand der Lösung Nr.	Schmelzpunkt	Mischschmelzpunkt mit Aconitin
1	196 °	196 °
2	194 °	197 °
3	195 °	197 °
4	194 °	195 °

Zwei analoge Versuche wurden erneut mittels Magnesiumoxyd-zusatz ausgeführt. Eine Säule wurde mit einer Mischung von 10 % Magnesiumoxyd und 90 % Aluminiumoxyd, die andere Säule mit einer Mischung von 25 % Magnesiumoxyd und 75 % Aluminiumoxyd gefüllt. Beide Säulen wurden sechs Tage stehengelassen. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels der Eluate wurden analog den vorher beschriebenen Versuchen jeweils die Schmelzpunkte und Mischschmelzpunkte mit reinem Aconitin verglichen. In sämtlichen Fällen ergab sich, dass keine Abspaltung der Azetylgruppe erfolgt war.

Vierter Versuch

0,5 g Aconitin-Base wurde mit gerade so viel 0,1 n Salzsäure versetzt, bis vollständige Lösung erzielt wurde. Die salzsaure Lösung wurde in einem Vakuumexsikkator über Phosphorpentoxyd und fester Kalilauge bis zur Auskristallisation stehengelassen. Das Salz wurde abgenutscht, in 20 cm³ Wasser gelöst und an einem Rückflusskühler während zweimal 12 Stunden auf dem Wasserbad gekocht. In Abständen von je einer Stunde wurde die Lösung vom Wasserbad weggenommen und direkt im Kolben mit 0,1 n Natronlauge titriert

(Phenolphthalein als Indikator). Aus den Titrationsresultaten war ersichtlich, dass die stärkste Abspaltung von Säure innerhalb der ersten Stunde erfolgte. In den nachfolgenden Stunden nahm die Abspaltung von Säure sehr rapid ab, und nach einigen Stunden trat überhaupt keine Säurebildung mehr ein. Dabei wurden aber insgesamt 30 % weniger Lauge verbraucht als theoretisch erforderlich sind, wenn 1 Mol Essigsäure abgespalten wird. Es wurde daher noch während 20 weiteren Stunden ununterbrochen weiter erhitzt, doch trat keine erneute Abspaltung von Säure mehr ein. Diese neutralisierte Lösung wurde mit Ammoniak deutlich alkalisch gemacht und dreimal mit je 10 cm³ Äther ausgeschüttelt. Die ätherische Lösung wurde im Vakuum zum Trocknen eingeeengt. Der Rückstand wurde während zwei Stunden über Phosphorpentoxyd getrocknet und der Schmelzpunkt bestimmt (156°). Anhand dieses Schmelzpunktes war anzunehmen, dass es sich um ein Gemisch handeln müsse. Es wurde daher versucht, das Gemisch chromatographisch auf Aluminiumoxyd zu trennen. Trotz mehrerer Versuche und Variierung der Lösungskonzentration sowie des Lösungsmittels gelang die Trennung nicht. Sämtliche Substanzen, die wir bei diesen Trennungsversuchen erhalten haben, wiesen einen Schmelzpunkt von 150 bis 160° auf.

Fünfter Versuch

Nach den Angaben von *Baker und Jordan*¹⁾ wird folgender Versuch ausgeführt:

0,5 g Aconitin-Base wird in 1 %iger Salzsäure gelöst und die Lösung in einem Vakuumexsikkator über Phosphorpentoxyd und fester Kalilauge bis zur Kristallisation eingeeengt. Die Kristalle werden abgenutscht, in etwas Wasser gelöst und über Phosphorpentoxyd bis zur völligen Trocknung aufbewahrt.

0,5 g Aconitin hydrochlorid wird in 15 cm³ Wasser gelöst, die klare Lösung mittels eines Trichters in eine hitzebeständige, dickwandige Glasampulle eingefüllt und diese zugeschmolzen. Diese Lösung wird in einem Ölbad während vier Stunden auf 120 bis 130° erhitzt. Nach dem Erkalten wird die Lösung filtriert. Sie ist praktisch nun farblos und weist nur Spuren von Verunreinigungen auf.

¹⁾ *Baker and Jordan*, Journ. Am. Pharm. Assoc. 25, 291 ff. (1936).

Die nach dieser Methode erhaltene Lösung wurde konzentriert. Die entstandenen Kristalle wurden vom Rest der Lösung abgenutscht und in ungefähr 3 bis 4 cm³ Aqua dest. gelöst. Die Lösung wurde wieder im Vakuum bis zur Kristallisation eingengt, dann vom restlichen Lösungsmittel erneut abgenutscht. Der Schmelzpunkt betrug 148°. Nach der Literatur¹⁾ beträgt der Schmelzpunkt für Benzoyl-aconinhydrochlorid 213 bis 214°.

Trotz zweifacher Reinigung durch Auflösen im Wasser und erneutem Konzentrieren im Vakuum stieg der Schmelzpunkt nicht. Die Vermutung, dass es sich um Aconitin hydrochlorid handelt, wurde bestätigt durch einen Mischschmelzpunkt mit reinem Aconitin hydrochlorid, welcher 148,5° ergab.

Dieser Versuch wurde unter genau denselben Bedingungen zwei weitere Male unternommen, unter Herabsetzung der Lösungskonzentration, doch waren die Resultate analog:

Schmelzpunkt	Mischschmelzpunkt mit Aconitinhydrochlorid
146°	147°
145°	146,5°

Es ist anzunehmen, dass unter diesen Bedingungen diese Methode unmöglich Benzoylaconin ergeben kann.

Wir versuchten nun, diese Methode abzuändern, indem die Temperatur und die Zeitdauer des Erhitzens variiert wurden.

Unter genau den gleichen Lösungsbedingungen wie *Baker und Jordan* angegeben haben, wurden vier Ampullen hergestellt:

Ampulle Nr.	Dauer der Behandlung
1	10 Stunden
2	15 Stunden
3	20 Stunden
4	24 Stunden

¹⁾ *Baker and Jordan*, Journ. Am. Pharm. Assoc. 25, 291 ff. (1936).

Im Gegensatz zu den vorangegangenen Versuchen wurden hier die Lösungen nicht im Ölbad, sondern in einem Trockenschrank erhitzt. Nach Beendigung der Versuche waren die Lösung 1 farblos, die Lösungen 2, 3 und 4 mit Zunahme der Versuchsdauer schwach gelblich gefärbt. Diese verfärbten Lösungen wurden mit je 0,5 g Carbo adsorbens erwärmt, gut durchgeschüttelt und filtriert. Die nun klaren und farblosen Lösungen wurden im Vakuum so lange eingengt, bis eine dicke, melasseähnliche, bräunliche Masse entstand. Durch festes Reiben mit einem Glasstab kristallisierte die Substanz rein weiss aus. Sie wurde abgenutscht und mit wenig kaltem Wasser ausgewaschen. Die Mutterlauge wurde erneut konzentriert, in die Kälte gestellt und analog bis zur erneuten Auskristallisation behandelt. Von diesen vier Versuchen wurde nun der Schmelzpunkt und der Mischschmelzpunkt bestimmt:

Lösung Nr.	Schmelzpunkt	Mischschmelzpunkt mit Aconitinhydrochlorid
1	146°	147°
2	143°	146°
3	140°	143°
4	138°	144°

Aus den erhaltenen Werten der Versuche 3 und 4 ist ersichtlich, dass die erhaltenen Kristalle keine einheitliche Substanz mehr darstellen, sondern wahrscheinlich erstmals Spuren von Benzoylaconin enthalten, welche aber trotz mehrfacher Versuche nicht abtrennbar waren.

Aus diesen Versuchen ist ersichtlich, dass die von *Baker und Jordan* angegebenen Temperaturen sicher zu tief sind. Wir haben daher durch Erhöhen der Temperaturen und der Versuchsdauer versucht, dem Ziel näher zu kommen.

In der neuen Versuchsreihe wurden je 0,4 g Aconitinhydrochlorid in 10 cm³ Aqua dest. gelöst und in Ampullen abgefüllt. Die Temperaturen und die Versuchsdauer wurden nach folgendem Schema variiert (siehe Tabelle Nr. I).

Um bei den Versuchen 17 bis 22 das reine Benzoylaconinhydrochlorid zu erhalten, wurde die ursprünglich ausgefällte Substanz

Tabelle Nr. I

Lösung Nr.	Temperatur	Versuchs- dauer in Stunden	Aussehen der Lösung	Schmelzpunkt	Mischschmelzpunkt mit Aconitinhydrochlorid	Ausbeute an Benzoyl- hydrochlorid
1	130°	48	gelblich klar	140°	140°	—
2	140°	3	gelblich klar	132°	140°	—
3	140°	8	gelb-bräunlich klar	132°	133°	—
4	140°	15	gelb-bräunlich klar	133°	138°	—
5	140°	24	gelb-bräunlich klar	129°	135°	—
6	140°	48	gelb-bräunlich klar	133°	140°	—
7	145°	3	gelb-bräunlich klar	136°	142°	—
8	145°	8	gelb-bräunlich klar	140°	144°	—
9	145°	15	gelb-bräunlich klar	144°	138°	—
10	145°	24	gelb-bräunlich klar	145°	135°	—
11	145°	48	gelb-bräunlich klar	144°	135°	—
12	150°	3	bräunlich schwach getrübt	149°	130°	—
13	150°	8	bräunlich schwach getrübt	155°	141°	—
14	150°	15	bräunlich schwach getrübt	155°	143°	—
15	150°	24	zunehmend braune Farbe	160°	155°	—
16	150°	48	zunehmend braune Farbe	158°	120°	—
17	155°	3	braun mit feinem schwarzen Staub	171°	110°	—
18	155°	8	braun mit feinem schwarzen Staub	180°	—	10%
19	155°	15	braun mit feinem schwarzen Staub	205°	—	15%
20	155°	24	braun mit feinem schwarzen Staub	199°	—	25%
21	155°	48	braun mit feinem schwarzen Staub	202°	—	30%
22	155°	18	hellbraun mit feiner Verkohlungs- dunkelbraun mit Verkohlungs	212°	—	40%
23	160°	3	zunehmende Verkohlungs	—	—	65%
24	160°	8	zunehmende Verkohlungs	nicht mehr auskristalli- sierbar	—	—
25	160°	15	zunehmende Verkohlungs	—	—	—
26	160°	24	praktisch völlig verkohlt	—	—	—

mehrmals wieder in wenig Wasser aufgenommen, an die Kälte gestellt und auskristallisiert. Auf diese Weise wurde das reine Benzoylaconinhydrochlorid in unterschiedlichen Mengen erhalten.

Bemerkungen zu den Resultaten

Die günstigsten Resultate wurden bei einer Temperatur von 145 bis 160° erzielt (siehe vorstehende Tabelle Nr. I).

Die in diesem Temperaturbereich erhaltenen Substanzen waren zum Teil sehr schwer auskristallisierbar und stark verfärbt. Es wurde daher bei den weiteren Darstellungsversuchen nach Beendigung des Erhitzens etwa 1% Carbo adsorbens zugesetzt und die erhaltene Lösung jeweils kurze Zeit schwach aufgeköcht. Nach dem Filtrieren war die Lösung dann praktisch farblos und klar. Da nun erstmals reines Benzoylaconinhydrochlorid erhalten worden war, war für weitere Versuche die Möglichkeit gegeben, die erhaltenen Lösungen nach dem Einengen im Vakuum an die Kälte zu stellen und mit einigen Kristallen zu impfen. Es ist jedoch ratsam, bei dieser Prozedur sehr vorsichtig zu Werke zu gehen, da bei zu rascher Fällung das Benzoylaconin teilweise amorph ausfällt. Dieses amorphe Benzoylaconin weist einen etwas tieferen Schmelzpunkt auf, und es ist ziemlich schwierig, die amorphe Form in die kristalline überzuführen. Um rasch ein möglichst reines Benzoylaconin zu erhalten, ist es günstig, die Lösung nicht zu stark einzuengen und etwa 2% Methanol zuzusetzen. Da bei der Darstellung immer noch Spuren von Aconitin und vermutlich auch von Aconin vorhanden sind, bleiben diese in der Mutterlauge gelöst zurück. Diese Behandlungsweise weist insofern einen Nachteil auf, als durch das Verwerfen der Mutterlauge die Ausbeute bedeutend herabgesetzt wird.

Zusammenfassend lässt sich die nach uns günstigste Methode zur Darstellung von Benzoylaconinhydrochlorid wie folgt beschreiben:

Es wird eine 4%ige Lösung von Aconitinhydrochlorid in Wasser hergestellt. Diese Lösung wird in einer dickwandigen Glasampulle (am günstigsten erwies sich dazu Pyrexglas) während 18 Stunden in einem Trockenschrank auf 155° erhitzt. Man lässt die Lösung abkühlen, öffnet die Ampulle und kocht die Lösung mit etwa 1% Zusatz von Carbo adsorbens während fünf bis sieben Minuten auf. Nach der Filtration dieser Lösung wird sie in einem Rundkolben durch vorsichtiges Erwärmen auf dem Wasserbade im Vakuum auf unge-

fähr 5 % der ursprünglichen Lösung eingeengt. Diese Lösung wird nun während 15 Stunden gut verschlossen in die Kälte gestellt. Nach Beendigung der Abkühlung wird sofort, d. h. solange also die Lösung möglichst kalt ist, mit einem feinen Glasstab so lange an den Wänden gerieben, bis gerade die Kristallisation beginnt. Dann wird die Lösung erneut 15 bis 20 Stunden an die Kälte gestellt, wobei innerhalb dieser Zeit der Grossteil des Benzoylaconinhydrochlorids auskristallisiert. Der erhaltene kristalline Niederschlag wird abgenutscht und mit 2 bis 3 cm³ Aqua dest., welches stark abgekühlt worden war, gewaschen. Darauf wird die Substanz im Vakuumexsikkator über Phosphorpentoxyd getrocknet. Der Schmelzpunkt beträgt 212 bis 213°. Zur weiteren Kontrolle des Endproduktes wird mit 10 %igem Ammoniak die Base freigesetzt, abfiltriert und getrocknet. Der Schmelzpunkt der Benzoylaconin-Base beträgt 125°.

Darstellungsversuche von Aconin

A. Spaltungsversuch des Aconitins mit Natriummethylat

Aus 50 cm³ Methanol und 5 g fein und frisch geschnittenem metallischem Natrium wurde eine Natriummethylat-Lösung bereitet. Darin wurden 1 g Aconitin-Base gelöst. Von dieser Lösung wurden je 10 cm³ in fünf verschiedene Erlenmeyer verteilt und bei normaler Temperatur verschieden lang stehengelassen. Nach Beendigung der Reaktion wurden die Lösungen mit verdünnter Schwefelsäure gegenüber Phenolphthalein genau neutralisiert und das Alkaloid mit Äther ausgeschüttelt. Die ätherische Lösung wurde abdestilliert und der Rückstand über Phosphorpentoxyd getrocknet. Dann wurde der Schmelzpunkt bestimmt:

Lösung Nr.	Dauer der Behandlung mit Natriummethylat	Schmelzpunkt
1	5 Stunden	180°
2	10 Stunden	156°
3	24 Stunden	{ nicht bestimmbar verkohlt bei 250°
4	48 Stunden	
5	8 Tage	

Die erhaltenen Resultate liessen vermuten, dass unter dem Einfluss des Natriummethylates eine tiefergreifende Änderung des Aconitins erfolgt war, denn Aconin-Base schmilzt bei 132°.

Um dies genauer festzustellen, wurden mit diesen fünf Substanzen die Reaktion nach *Brongea*¹⁾ ausgeführt. Bei Anwesenheit von Aconitin entsteht eine farblose Lösung mit blauer Fluoreszenz, bei Anwesenheit von Benzoylaconin und Aconin eine purpurfarbene Lösung mit stark grüner Fluoreszenz.

Bei Lösung 1 war nach dieser Reaktion noch ein schwach positives Resultat festzustellen, bei den Lösungen 2 bis 5 waren die Reaktionen negativ.

B. Spaltungsversuch mit Natriumäthylat

Da die Versuche hier analog wie unter A ausgeführt wurden, erübrigt sich eine detaillierte Beschreibung, und wir beschränken uns darauf, die Endresultate anzugeben:

Die Resultate der Versuchsreihe B waren analog den vorher beschriebenen.

Es wurden drei weitere Versuche in einer sehr schwachen Natriumäthylatlösung ausgeführt, doch waren auch hier die Endprodukte völlig negativ:

Lösung Nr.	Dauer der Behandlung mit Natriumäthylat	Schmelzpunkt
1	5 Stunden	etwa 171° (undeutlich)
2	24 Stunden	verkohlt über 250°
3	48 Stunden	verkohlt über 250°

Verseifungsversuch von Aconitin mit Natriumbicarbonat

0,5 g Aconitin-Base wurde in 20 cm³ 10 %iger Natriumbicarbonat-Lösung unter Zusatz von 5 cm³ Aethanol gelöst. Diese Lösung wurde

¹⁾ Mercks Reagenzienverzeichnis (1939), Darmstadt.

in fünf Teile aufgeteilt. Diese fünf Lösungen wurden am Rückflusskühler verschieden lang gekocht, die Lösungen dann mit Äther ausgeschüttelt, der Äther abdestilliert und nach Trocknung über Phosphorpentoxyd der Schmelzpunkt bestimmt:

Lösung Nr.	Dauer des Kochens am Rückflusskühler	Schmelzpunkt
1	30 Minuten	216°
2	1 Stunde	221°
3	5 Stunden	verkohlt über 250°
4	10 Stunden	
5	24 Stunden	

Auch diese Versuche führten also nicht zum Ziele.

Verseifungsversuch von Aconitin mit Natronlauge

0,8 g Aconitin-Base wurden in 5 cm³ Spiritus gelöst und mit 25 cm³ 5%iger Natronlauge versetzt. Je 5 cm³ dieser Lösung wurden in einen Kolben abgefüllt und nach folgendem Schema behandelt:

Lösung Nr.	Temperatur der Aufbewahrung	Dauer des Versuches	Schmelzpunkt
1	18°	30 Minuten	161°
2	18°	5 Stunden	170°
3	50°	30 Minuten	171°
4	50°	5 Stunden	220°
5	100°	15 Minuten	unter Braunfärbung { über 250° Verkohlung
6	100°	30 Minuten	
7	100°	1 Stunde	
8	100°	5 Stunden	

Die in diesem Schema angegebenen Schmelzpunkte wurden an den Substanzen bestimmt, welche in der üblichen Weise durch Ätherextraktion aus den Lösungen gewonnen worden waren.

Es wurden weitere vier Lösungen von je 0,1 g Aconitin mit 5 cm³ 1 %iger Natronlauge angesetzt und verschieden lang stehengelassen.

Lösung Nr.	Temperatur	Versuchsdauer	Schmelzpunkt
1	15°	1 Tag	etwa 210°
2	20°	3 Tage	etwa 210°
3	25°	6 Tage	{ über 250° Verkohlung
4	30°	21 Tage	

Es ist zu vermuten, dass bei allen diesen Versuchen das Milieu zu stark alkalisch ist und hier meist ausser der eigentlichen Hydrolyse ein weiterer Abbau des Aconins erfolgt. Dies findet seine Bestätigung, indem bei allen erhaltenen Substanzen die Reaktion, nach *Brongea* durchgeführt, negativ verlief und somit nirgends mehr ein Nachweis von Aconitin, Benzoylaconin oder Aconin möglich war.

Darstellungsversuch von Aconin nach Schulze

Schulze¹⁾ gibt zur Darstellung von Aconin an, dass es durch tagelanges Kochen mit Wasser dargestellt werden kann.

Wir haben daher versucht, durch Variieren der Dauer, durch Kochen auf dem Wasserbad, auf freiem Feuer oder am Rückflusskühler, zu einer Darstellungsweise von Aconin zu gelangen. Zu den weiter unten angegebenen Versuchen wurde jeweils 0,1 g Aconitin-Base in 10 cm³ Wasser suspendiert und in einen 25 cm³ Erlenmeyerkolben abgefüllt, sodann erhitzt. Die erhaltene wässrige Lösung wurde mit verdünntem Ammoniak alkalisch gemacht und mit Äther ausgeschüttelt. Die zurückgebliebene wässrige Lösung wurde im Vakuum zum Trocknen eingengt und der Schmelzpunkt des Rückstandes bestimmt.

Wie aus den Resultaten ersichtlich ist, gelang es hier erstmals, in geringen Mengen Aconin zu gewinnen.

¹⁾ H. Schulze, Archiv der Pharmazie, 244 (1906) 154 ff.

A. Erhitzen auf dem Wasserbad

Lösung Nr.	Verwendete Menge Aconitin in g	Dauer der Reaktion	Schmelzpunkt	Ausbeute in %
1	0,1	12 Stunden	177°	—
2	0,1	24 Stunden	160°	—
3	0,1	36 Stunden	151°	—
4	0,1	48 Stunden	140°	—
5	0,1	72 Stunden	142°	—

B. Erhitzen am Rückflusskühler auf dem Drahtnetz

Lösung Nr.	Verwendete Menge Aconitin in g	Dauer der Reaktion	Schmelzpunkt	Ausbeute in %
6	0,1	12 Stunden	151°	—
7	0,1	24 Stunden	140°	—
8	0,1	36 Stunden	128°	25
9	0,1	48 Stunden	129°	12
10	0,1	72 Stunden	130°	15

C. Erhitzen auf freiem Feuer

unter dauerndem Ersatz des verflüchtigten Wassers

Lösung Nr.	Verwendete Menge Aconitin in g	Dauer der Reaktion	Schmelzpunkt	Ausbeute in %
11	0,1	12 Stunden	112°	—
12	0,1	24 Stunden	155°	—
13	0,1	36 Stunden	180° verkohlt	—
14	0,1	48 Stunden	240° verkohlt	—
15	0,1	72 Stunden	245° verkohlt	—

Aus den Resultaten ist ersichtlich, dass bei der Methode am Rückflusskühler die relativ besten Resultate erhalten wurden. Die günstigste Behandlungsdauer mit dieser Methode beträgt 36 Stunden.

Zu den übrigen Resultaten ist beizufügen, dass trotz mehrfacher Reinigungsversuche es nicht gelang, die Schmelzpunkte der Substanzen zwischen 151 und 112° wesentlich zu ändern, obschon anzunehmen ist, dass es sich hier teilweise um Aconin handeln muss, welches scheinbar nur schwer von den übrigen Begleitstoffen zu trennen ist.

Da die Ausbeute bei dieser Darstellungsmethode sehr schlecht ist und die Reinigung grosse Schwierigkeiten bereitet, wurden weitere Versuche nach dieser Methode fallengelassen und noch weitere Darstellungsmethoden ausprobiert.

Darstellungsversuch von Aconin nach Baker und Jordan

In ihren Untersuchungen über die Aconitalkaloide geben *Baker und Jordan* ¹⁾ folgende Darstellungsmethode für Aconin an:

Eine Mischung von Aconitin und Aqua dest. (1 bis 2 g Aconitin in 40 bis 50 cm³ Wasser) wird in eine dickwandige Pyrexglasampulle eingefüllt und die Ampulle zugeschmolzen.

Diese Lösung wird während mehreren Stunden bei 120 bis 130° erhitzt. Die wässrige Lösung wird dann mit Äther ausgeschüttelt und der Äther verworfen. Nach Zusatz von Schwefelsäure wird die Lösung dann mit Äther ausgeschüttelt, um die Benzoessäure zu entfernen. Die wässrige Lösung wird zur Entfernung der Essigsäure auf ein kleines Volumen eingedampft. Nun wird bis zur völligen Fällung des Sulfates vorsichtig Bariumhydroxyd zugesetzt. Nach Entfernung des Bariumsulfates durch Filtration wird die Lösung zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird mit Äther ausgewaschen (fünfmal mit je 10 cm³ Äther), die ätherischen Lösungen vereinigt und der Äther abdestilliert. Die so erhaltene Base hat einen Schmelzpunkt von 130 bis 132°, und das Hydrochlorid schmilzt bei 174 bis 175°. Diese Werte entsprechen denjenigen, welche in der Literatur ²⁾ für Aconin und dessen Hydrochlorid angegeben werden.

¹⁾ *Baker and Jordan*, Journ. Am. Pharm. Assoc. 25, 294 ff. (1936).

²⁾ *Charles D. Hodgman*, Handbook of Chemistry and Physics, Chemical Rubber Publishing Company, Cleveland, Ohio (1945), 572 ff.

Die von uns nach dieser Methode erhaltenen Resultate entsprachen nicht den Angaben von *Baker und Jordan*. Es wurden drei Versuche nach dieser Vorschrift ausgeführt, wobei folgende Schmelzpunkte erhalten wurden:

Lösung Nr.	Schmelzpunkt des Hydrochlorides
1	159° Schmelzpunkt des
2	148° Aconitinhydrochlorides:
3	158° 151 bis 153°

Wie bereits bei den Angaben zur Darstellung von Benzoylaconin nach *Baker und Jordan* lag auch hier die Vermutung nahe, dass sowohl die Temperatur als auch die Versuchsdauer zu niedrig sind. Es wurde nun, basierend auf der von *Baker und Jordan* angegebenen Methode versucht, durch Variation der Temperatur und der Versuchsdauer zu einem Resultat zu gelangen.

Sämtliche folgenden Versuche wurden entsprechend der Vorschrift von *Baker und Jordan* ausgeführt, das heisst mit einer 3%igen Aconitinhydrochloridlösung, welche in einer Ampulle im Trockenschrank verschieden lang und verschieden hoch erhitzt wurde.

Lösung Nr.	Temperatur	Dauer des Versuches in Stunden	Schmelzpunkt
1	130°	12	148°
2	130°	18	147°
3	130°	24	145°
4	140°	12	144°
5	140°	18	145°
6	140°	24	145°
7	150°	12	115°
8	150°	18	118°
9	150°	24	118°
10	155°	12	129°
11	155°	18	130°
12	155°	24	130°

Bemerkungen zu den Resultaten:

Wiederum ist hier 155° die günstigste Temperatur zur Darstellung des Aconins, doch geben hier, im Gegensatz zur Darstellung des Benzoylaconins 24 Stunden Versuchsdauer die beste Ausbeute. Die Farbe der behandelten Lösungen ist hellgelblich, und es bildet sich nur ein sehr geringer bräunlich-schwarzer Bodensatz.

Nach mehreren Reinigungsversuchen zur besseren Ausbeute wurde die Methode zur Darstellung des Aconins folgendermassen modifiziert:

Eine 3%ige Suspension von Aconitin in Wasser wird während 24 Stunden auf 155° in einer Pyrexglas-Ampulle im Trockenschrank erhitzt. Nach dem Erkalten der Lösung wird die Ampulle geöffnet, die Lösung mit etwa 0,5 g Carbo adsorbens kurz aufgekocht und filtriert. Nach Zusatz von verdünnter Schwefelsäure bis zur sauren Reaktion auf Lakmus wird die Lösung einmal mit Äther ausgeschüttelt und der Äther verworfen. Eine frisch bereitete Bariumhydroxydlösung (kalt gesättigt) wird langsam zugesetzt, bis kein Bariumsulfat mehr ausfällt. Der Niederschlag wird abdekantiert und filtriert. Der Rückstand wird mit etwas Bariumhydroxydlösung gewaschen, die beiden Lösungen vereinigt und im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der Kolben wird mit dem Rückstand während 24 Stunden im Vakuumexsikkator über Phosphorpentoxyd aufbewahrt. Der erhaltene feste, gelblich-weiße Bariumhydroxyd und -Carbonat enthaltende Rückstand im Kolben wird fünfmal mit je 50 bis 70 cm³ Äther während je 25 bis 30 Minuten am Rückflusskühler ausgekocht und der Äther abfiltriert. Die fünf vereinigten Lösungen werden durch Destillation vom Äther befreit. Der Schmelzpunkt der weissen, amorphen Base beträgt 130° . Dieser Wert stimmt genau mit dem für Aconin-Base angegebenen Wert überein.

Versuch Nr.	Aethermenge pro einzelne Extraktion	Dauer der Trocknung	Schmelzpunkt
1	50 cm ³	24 Stunden	130°
2	30 cm ³	24 Stunden	129°
3	20 cm ³	12 Stunden	130°
4	10 cm ³	24 Stunden	165°
5	100 cm ³	12 Stunden	130°

Nach dieser Methode wurden fünf Darstellungsversuche ausgeführt. Variationen wurden in der Trocknungsdauer und in der zur Extraktion verwendeten Äthermenge versucht (s. Tabelle S. 27).

Bei Versuch Nr. 4 sind wir auf eine Substanz gestossen, welche in ihrem Aussehen und chemischen Verhalten völlig dem üblichen Aconin entspricht. Der Schmelzpunkt dieser Substanz beträgt aber 165° . Zur Identifizierung der Substanz wurden folgende Versuche unternommen:

- a) Bestimmung des Mischschmelzpunktes mit Aconitin (Schmelzpunkt 198°) = 146° .
- b) Bestimmung des Mischschmelzpunktes mit Aconin (Schmelzpunkt 130°) durch rasches Erhitzen = 152 bis 156° , durch langsames Erhitzen = langsamer Schmelzvorgang von 148 bis 155° .
- c) Im Gegensatz zu den meisten Alkaloiden ist die Aconin-Base in Wasser sehr gut löslich. Dieses ist auch hier der Fall.
- d) Ein Mischschmelzpunkt mit Benzoylaconin (Schmelzpunkt 130°) ergab 111° .

Diese Versuche lassen vermuten, dass es sich hier um eine höher schmelzende Modifikation des Aconins handelt, die bis jetzt in der Literatur nicht erwähnt wird. In diesem Zusammenhang sei die Angabe von *T. A. Henry*¹⁾ erwähnt, der angibt, dass zwei verschiedene Benzoylaconinhydrochloride gefunden worden sind, wobei das eine einen Schmelzpunkt von 217° , das andere einen Schmelzpunkt von 270° aufweist. Die letztere Form haben wir trotz verschiedenartigster Kristallisationsversuche zwar nie erhalten, und es wird auch bei keiner der uns bekannten Darstellungsmethoden oder Literaturangaben diese höher schmelzende Modifikation erwähnt.

Aconin-Base ist bis heute noch nie in kristalliner Form erhalten worden und unsere diesbezüglichen Versuche, ein kristallines Aconin zu gewinnen, verliefen alle negativ.

Die Ausbeute an Aconin bei der Darstellung aus Aconitin beträgt zwischen 45 und 55 %.

¹⁾ *T. A. Henry*, *The Plant Alkaloids*, Churchill-Verlag London (1949), 675 ff.

Darstellung der Tinktur und des Extraktes

Da wir für die Untersuchungen eine grössere Menge Tinktur und des daraus hergestellten Trockenextraktes benötigten, und um übersichtliche und vergleichbare Resultate zu erhalten, wurden 2 kg Tuber Aconiti Ph. H. V. auf einmal in Arbeit genommen, damit das Ausgangsmaterial einheitlich war.

Die mikroskopische Untersuchung der uns in freundlicher Weise von der AG. vorm. B. Siegfried, Zofingen, zur Verfügung gestellten Droge ergab bei verschiedenen Probeentnahmen, dass diese den Anforderungen der Ph. H. V. entsprach.

Die Alkaloidbestimmung nach Ph. H. V. ergab die untenstehenden Werte:

Versuch Nr.	Einwage Tuber Aconiti pulvis	Verbrauchte cm ³ 0,1 n Salzsäure	%-Gehalt Alkaloide
1	6 g	0,52	0,82
2	6 g	0,52	0,82
3	6 g	0,50	0,80
4	6 g	0,53	0,83
5	6 g	0,53	0,83

Darstellung der Tinctura Aconiti

Die Droge wurde entsprechend der Vorschrift der Ph. H. V. so lange mit Spiritus dilutus perkoliert, bis das zuletzt aufgefangene Perkolat keine Reaktion mehr mit Mayer's Reagens ergab.

Eine kleine Probe der Tinktur wurde zur weiteren Untersuchung mit Spiritus dilutus auf einen Alkaloidgehalt von 0,05 % verdünnt und nach den Vorschriften der Ph. H. V. qualitativ geprüft.

Darstellung des Trockenextraktes

Zur Herstellung des Trockenextraktes wurden 20 kg Tinktur im Sikkotopf bei einer maximalen Badtemperatur von 40 bis 45° im Vakuum eingeeengt und zur Trockne gebracht.

Da die Schaumentwicklung anfänglich gross war, wurden jeweils nur kleine Portionen auf einmal in den Topf gegeben und weitgehend

eingedampft, bevor wieder neue Tinktur in den Vakuumtopf nachgesogen wurde.

Das praktisch trockene und luftige Extrakt wurde während 24 Stunden über Phosphorpentoxyd im Vakuumexsikkator aufbewahrt und dann pulverisiert. Es wurde ein rötlich-braunes Extrakt erhalten, das schuppig, trocken und praktisch geruchlos war.

Aus 20 kg Tinktur, welche zur Extraktdarstellung verwendet wurden, konnten 590 g Trockenextrakt gewonnen werden. Während der ganzen Dauer der späteren Versuche wurde das Aconitextrakt in einem Exsikkator über Phosphorpentoxyd aufbewahrt. Nach einem Jahr war das Extrakt äusserlich absolut unverändert. Es war praktisch keine Feuchtigkeit aufgenommen worden. Das Aussehen und der Geruch waren völlig gleich geblieben. Der Gehalt an Alkaloiden, bestimmt nach Ph. H. V. war nach einem Jahr völlig unverändert.

In Übereinstimmung mit den Untersuchungen von *Freudweiler*¹⁾ war festzustellen, dass ein Trockenextrakt im Gegensatz zu der Tinktur eine äusserst stabile Art der Aufbewahrung darstellt.

Eine starke Beeinflussung der physiologischen Eigenschaften ist durch Verarbeitung der Tinktur zum Trockenextrakt nicht zu erwarten, da nie Temperaturen erreicht wurden, bei welchen eine Hydrolysegefahr für die Aconit-Alcaloide besteht.

Das Extrakt ist in Spiritus und in Spiritus dilutus leicht löslich. In Wasser ist es nicht völlig klar löslich.

III. CHEMISCHE WERTBESTIMMUNGEN DES ACONITEXTRAKTES

Bestimmungen der Gesamtalkaloide

Die ersten Bestimmungen wurden nach folgender Vorschrift ausgeführt:

5 g Extrakt werden in 10 cm³ Wasser auf dem Wasserbad bis zur teilweisen Lösung erwärmt (maximale Temperatur 50°). Nach dem Erkalten wird zu dieser Teillösung 50 g Äther und 2,5 cm³ 10 %iger Ammoniak zugesetzt und in einem verschlossenen Erlenmeyer während 30 Minuten kräftig geschüttelt. Dann werden 5 g Tragant zugegeben. Nach dem Absetzen des Extraktrückstandes werden 40 g der ätherischen Lösung (= 4,0 g Extrakt) durch etwas Watte in einen Erlenmeyer-Kolben filtriert. Der Äther wird auf dem Wasserbad abdestilliert. Der Rückstand wird noch zweimal mit je 5 cm³ Äther aufgenommen und letzterer erneut vollständig verjagt. Dann wird der Rückstand auf dem Wasserbad durch leichtes Erwärmen unter häufigem Umschwenken in 5 cm³ Spiritus gelöst. Nach Zusatz von 30 cm³ frisch ausgekochtem und erkaltetem Wasser wird unter Zugabe von 10 Tropfen Methylrot mit 0,1 n Salzsäure bis zur Rotfärbung titriert.

Diese Methode ergab die in Tabelle Nr. 1 (S. 32) zusammengestellten Werte.

Dieses Verfahren weist mehrere Nachteile auf:

1. Die Extraktion der Alkaloide ist wohl quantitativ. Da aber ziemlich viele Ballaststoffe mitextrahiert werden, tritt in der eigentlichen alkoholischen Titrierlösung bei Zusatz von Wasser eine sehr starke Trübung auf, und der Umschlagspunkt des Indikators ist sehr schwierig zu erfassen.

Tabelle Nr. 1

Versuch Nr.	Aethermenge in g		Verbrauchte 0,1 n Salzsäure in cm ³	%o-Gehalt Alkaloide
	verwendet	zur Titration gelangt		
1	50	40	0,98	1,58
2			0,95	1,53
3			0,93	1,50
4			0,94	1,52
5			0,98	1,58
6			0,94	1,52
7			0,96	1,55
8			0,94	1,52
9			0,97	1,56
10			0,92	1,48

2. Wird anfänglich ohne Zusatz von Wasser titriert, so tritt zwar keine Trübung auf. Diese Lösung gibt aber eine Mischfarbe mit dem Indikator, die einen deutlichen Umschlag ebenfalls nicht feststellen lässt. Eine Verwendung von Vergleichslösungen unter Zusatz von verschiedenen Mengen 0,1 n Natronlauge oder 0,1 n Salzsäure erwies sich ebenfalls als ungeeignet, da die Umschlagsfarbe der Vergleichslösungen von derjenigen der zu titrierenden Lösungen stark verschieden ist. Obschon die Resultate unter sich einigermassen übereinstimmen, ist das Gesamtergebnis vermutlich zu hoch, da der angenommene Umschlagspunkt bereits einer Übertitration gleichkommt. Die zwei ersten titrierten Lösungen wurden jeweils als Vergleichslösungen für die Ermittlung des Umschlagspunktes zur Titration der übrigen verwendet.

Diese Methode hat also folgende Nachteile:

- a) Ein ungünstiger Indikator;
- b) zuviele Ballaststoffe in der Lösung der Alkaloide.

Versuche zur Reinigung der Alkaloidlösung

Nach der ersten Extraktion mit Äther wurden die Alkaloide aus der Ätherphase in etwa 0,1 n Schwefelsäurelösung hinübergeschüttelt, wobei diese Ausschüttelung unter fünf Malen mit je 10 cm³

Schwefelsäure erfolgte. Diese wässrige Lösung wurde mit 2,5 cm² 10 %igem Ammoniak alkalisch gemacht und neuerdings fünfmal mit je 20 cm³ Äther ausgeschüttelt. Zur Trocknung des Äthers wurde die Lösung durch einen Papierfilter filtriert. (Es waren vorgängig einige Versuche zur Trocknung des Äthers mittels Säulen von Natriumsulfat und Natriumphosphat ausgeführt worden. Die Trocknung auf diese Weise ist ungünstig, da ein kleiner Teil der Alkaloide durch die Säule adsorbiert wird.) Die ätherische Alkaloidlösung wurde nun wie vorher zur Trockne gebracht und titriert.

Diese Reinigungsmethode hat den Vorteil, dass gefärbte Ballaststoffe weitgehend entfernt werden und klare, ungefärbte Lösungen zur Titration gelangen.

Die Titration dieser gereinigten Alkaloidlösungen wurde mit zwei verschiedenen, frisch zubereiteten Mischindikatoren vorgenommen. Die Bestimmungen der Tabelle 2a erfolgten mit einer Mischung von 8 Tropfen Methylrot und 2 Tropfen alkoholischer Methylenblaulösung (1 : 1000), die Bestimmungen der Tabelle Nr. 2b mit 8 Tropfen Bromkresolgrün und 2 Tropfen Methylenblaulösung. Mit Hilfe dieser Indikatoren ist nun der Umschlag sehr deutlich und scharf.

Tabelle Nr. 2a

Je 5 g Extrakt, wovon 4 g zur Titration gelangten, wurden eingewogen.

Versuch Nr.	Verbrauchte 0,1 n Salzsäure in cm ³	%-Gehalt Alkaloide
1	0,61	0,98
2	0,62	1,00
3	0,64	1,03
4	0,66	1,06
5	0,62	1,00
6	0,64	1,03
7	0,62	1,00
8	0,64	1,03
9	0,64	1,03
10	0,62	1,00
11	0,63	1,02
12	0,65	1,05

Tabelle Nr. 2b

Versuch Nr.	Verbrauchte 0,1 n Salzsäure in cm ³	‰-Gehalt Alkaloide
13	0,67	1,08
14	0,65	1,06
15	0,63	1,02
16	0,64	1,03
17	0,62	1,00
18	0,65	1,05
19	0,63	1,02
20	0,64	1,03

Aus den Resultaten der Tabellen Nr. 2a und 2b ist ersichtlich, dass es keine Wertverschiebung zwischen den beiden Indikatoren gibt. Da ich persönlich den Farbumschlag von Methylrot und Methylblau als deutlicher erfassbar betrachte, wurde zu sämtlichen weiteren Bestimmungen, welche in dieser Arbeit ausgeführt wurden, dieser Mischindikator verwendet. Vergleicht man die Werte der Tabelle 1 mit den Werten der beiden anderen Tabellen, so kann nun deutlich festgestellt werden, dass die Werte der Tabelle 1 wegen Übertitration wesentlich zu hoch ausgefallen sind.

Versuche zur Abänderung des Ätherquantums bei der Alkaloidbestimmung

Zur Kontrolle, ob bei der verwendeten Methode die Extraktion der Alkaloide quantitativ ist, wurde die ursprüngliche Äthermenge von 50 g auf 100 und 200 g erhöht. Anstatt den Äther, wie bisher, einheitlich abzuwägen, wurde der Äther nach der Tragant-Behandlung durch einen mit einem Uhrglas bedeckten Papierfilter gegossen und dann erst abgewogen. Da bei der Aufnahme von Wasser durch den Tragant gleichzeitig auch Äther aufgenommen wird, erhält man keine einheitlichen Gewichtsmengen ätherischer Lösungen. Dementsprechend wurde der zur Bestimmung gelangte Extrakt jeweils pro-

portional dem abfiltrierten Ätherquantum berechnet. Dadurch ergaben sich naturgemäss bei der Titration stark variierende Mengen von 0,1 n Salzsäure.

Tabelle Nr. 3

Versuch Nr.	Aether		Titration	
	verwendete Menge in g	zur Titration gelangte Aetherlösung in g	verbrauchte 0,1 n Salzsäure in cm ³	%-Gehalt Alkaloide
1	50	38	0,92	1,56
2	50	39	0,94	1,56
3	50	40	0,86	1,39
4	50	40	0,93	1,50
5	100	82	0,75	1,18
6	100	82	0,74	1,16
7	100	81	0,73	1,18
8	100	80	0,72	1,16
9	200	168	0,74	1,14
10	200	169	0,73	1,12
11	200	170	0,75	1,14
12	200	168	0,74	1,14

An Hand der Resultate ist ersichtlich, dass die Äthermenge bei der Extraktion eine grosse Rolle spielt, und dass sich die Zunahme des Ätherquantums nicht günstig auf die Extraktion auswirkt. Eigenartig mutet vor allem der hohe Prozentgehalt der Gruppe, die mit 50 g Äther extrahiert wurde, an, welcher bedeutend über den Resultaten der 100- und 200-g-Äthergruppen liegt. Ausserdem sind aber diese Resultate auch bedeutend höher als bei den Bestimmungen der Tabellen 1, 2a und 2b. Durch die Verdunstung von kleinen Mengen Äther während der Filtrationen und Wägungen lassen sich diese grossen Unterschiede keineswegs erklären. Erst nachträglich wurden wir uns bewusst, dass dies im Zusammenhang mit der Ausschüttelungsdauer stehen könnte. Eine andere Erklärung liess sich nicht finden, denn es ist kaum anzunehmen, dass Überreste von Ammoniak in der Alkaloidlösung zurückgeblieben waren, nachdem die Lösung

vorerst mit Äther und nachher mit Spiritus aufgenommen und auf dem Wasserbad jeweils diese Lösungsmittel vollständig verjagt wurden.

Es wurde daher bei allen weiteren Versuchen während einer einheitlichen Zeit ausgeschüttelt. Um möglichst gleiche Bedingungen zu erreichen, wurden zur Ausschüttelung des Extraktes mit Äther eine Schüttelmaschine verwendet, die auf eine mittlere Geschwindigkeit eingestellt war. Es ist dabei ratsam, das Gefäss nach den ersten zwei bis drei Minuten zu öffnen, um einen Überdruck des Äthers zu vermeiden.

Neben der Äthermenge, welche zur Extraktion der Alkaloide diente, musste auch angenommen werden, dass möglicherweise die Ammoniakmenge und deren Konzentration eine ziemliche Rolle spielen dürfte. Schon bei den ersten Bestimmungen war aufgefallen, dass die Fällung von Ballaststoffen bei Zusatz von Ammoniak in grossen Verdünnungen bedeutend voluminöser war und sich unter starker Emulsionsbildung bei der Ausschüttelung in Äther sehr ungünstig auswirkte.

Tabelle Nr. 4

Versuch Nr.	Äther		Ammoniak in cm ³	Konzentration	Verbrauchte 0,1 n Salzsäure in cm ³	% Gehalt Alkaloide
	verwendete Menge in g	abgewogene zur Titration gelangende Menge Ätherlösung in g				
1	50	31	10	10 %	0,76	1,58
2	50	32	10		0,76	1,55
3	100	92	20		0,96	1,35
4	100	90	20		0,94	1,35
5	200	184	30		1,17	1,64
6	200	164	30		0,98	1,54
7	50	43	10	25 %	1,15	1,73
8	50	39	10		1,13	1,87
9	100	89	20		1,05	1,61
10	100	86	20		1,08	1,62
11	200	186	30		1,14	1,58
12	200	182	30		1,14	1,61

Um den Einfluss des Ammoniaks zu untersuchen, wurden mehrere Ausschüttelungen mit variierendem Ammoniakgehalt ausgeführt. Ob-
schon der Unterschied nicht bedeutend ist, kann aus den Resultaten
doch eindeutig festgestellt werden, dass der Zusatz von 25 %igem
Ammoniak höhere Werte ergibt, als bei Verwendung von 10 %igem
Ammoniak. Was aber vor allem zur endgültigen Verwendung von
25 %igem Ammoniak ausschlaggebend war, war die Tatsache, dass
die Emulsionsbildung stark herabgesetzt wurde.

Versuche zur Abänderung des Ätherquantums unter Anwendung von 25 % Ammoniak

Bei diesen Bestimmungen wurden sämtliche Extraktionen mit
15 cm³ 25 %igem Ammoniak ausgeführt. Gleichzeitig wurde die
Äthermenge variiert. Da die besten Resultate dieser Versuchsreihe
bei der Extraktion mit 100 g Äther erhalten wurden, entschlossen
wir uns, zur definitiven Ausarbeitung der Bestimmung der Gesamt-
alkaloide jeweils 100 g Äther zur Extraktion zu verwenden und zum
Freisetzen der Alkaloide 15 cm³ 25 %igen Ammoniak. Die Bestim-
mung der Alkaloide ergab in dieser Versuchsreihe die geringste
Streuung, weist aber gegenüber den vorhergehenden Versuchsreihen
doch starke Abweichungen auf.

*) Bei den Versuchen Nr. 4 bis 6 und 10 bis 12 wurde an Stelle
von Äther Chloroform zur Extraktion verwendet. Die Resultate sind
wohl gleich gut, jedoch wird die Arbeit durch sehr starke Emulsions-
bildung verzögert. Hier verhindert selbst der Zusatz von konzen-
triertem Ammoniak die Emulsionsbildung nicht. Einen Vorteil würde
aber die Chloroformextraktion trotzdem bieten, da die Aufnahme
von Farb- und Ballaststoffen aus dem Extrakt hier bedeutend gerin-
ger ist als bei Verwendung von Äther. Weitere Versuche mit Chloro-
form mussten aber fallengelassen werden, da die Emulsionsbildung
einen zu starken Zeitverlust bedingt.

Diese Abweichung und die zum Teil widersprechenden Resultate
der bisherigen Versuchsserien führten uns auf die Vermutung, dass
möglicherweise die Dauer, während welcher die Alkaloide mit
Ammoniak in Berührung blieben, und die Gesamtdauer der Extrak-
tion einen Einfluss ausüben könnten.

Tabelle Nr. 5

Sämtliche Versuche mit 15 cm³ 25%igem Ammoniak

Versuch Nr.	Aether		Titration	
	zur Extraktion verwendete Menge in g	abgewogene zur Titration gelangte Menge in g	0,1 n Salzsäure in cm ³	%-Gehalt Alkaloide
1	50	42	0,72	1,10
2	50	44	0,72	1,06
3	50	44	0,77	1,14
4*	50	43	0,73	1,10
5*	50	43	0,75	1,12
6*	50	43	0,72	1,08
7	100	84	0,73	1,12
8	100	80	0,72	1,16
9	100	88	0,75	1,10
10*	100	86	0,73	1,10
11*	100	88	0,71	1,04
12*	100	84	0,72	1,11

In der folgenden Gruppe wurde der Einfluss der Gesamtdauer der Extraktion untersucht, welche vom Zeitpunkt der Lösung des Extraktes bis zur Titration der Alkaloide verläuft. Bei den bisherigen Bestimmungen war die Gesamtdauer der Versuche nie stark berücksichtigt worden.

Um eine rationellere Arbeitsweise zu erhalten, waren bisher jeweils mehrere Bestimmungen gleichzeitig ausgeführt worden, so dass sich eine einzelne Gesamtbestimmung meist auf einen ganzen Arbeitstag erstreckte. Es wurde nun jeder Versuch einzeln vollständig zu Ende geführt, um die Gesamtarbeitszeit herabzusetzen. Dabei konnte ein Mittelwert von sechs Stunden erzielt werden. Aus den erhaltenen Resultaten ist ersichtlich, dass Versuche, bei denen die Sechsstundengrenze für die gesamte Bestimmung nicht überschritten wird (siehe Tabelle Nr. 6), gut übereinstimmende und namentlich höhere Resultate ergaben als bei den früheren Versuchsserien, wo häufig die Ausschüttelung über Mittag oder gar über Nacht stehengelassen wurde. Eine eindeutige Erklärung dieser Beob-

achtung lässt sich nicht geben. Es muss angenommen werden, dass diese Unstimmigkeiten der früheren Serien durch Hydrolyse von Aconitin-Base zu Aconin, das in Äther unlöslich ist (siehe S. 45 ff), und eventuell auch durch Adsorption an Ballaststoffe Verluste bedingt sind.

Tabelle Nr. 6

Sämtliche Versuche wurden mit 15 cm³ 25%igem Ammoniak durchgeführt. Die Zeitdauer der ganzen Bestimmung beträgt maximal sechs Stunden.

Versuch Nr.	Aether		Titration	
	verwendete Menge in g	abgewogene Menge in g	verbrauchte 0,1 n Salzsäure in cm ³	%-Gehalt Alkaloide
1	100	95	1,39	1,89
2	100	96	1,36	1,83
3	100	94	1,43	1,96
4	100	94	1,42	1,95
5	100	94	1,43	1,96
6	100	94	1,40	1,92
7	100	95	1,39	1,89
8	100	94	1,40	1,92
9	100	94	1,41	1,94
10	100	96	1,39	1,94
11	100	92	1,38	1,87
12	100	95	1,40	1,90

Getrennte Untersuchungen von Aconitin und Benzoylaconin

Bisherige Untersuchungen:

Untersuchung der Methode von Bronkhorst ¹⁾

Das Prinzip dieser Methode beruht darauf, dass zuerst die Gesamtalkaloide isoliert werden. (Aconin wird dabei nicht erfasst, da es als wässrige Lösung nicht ausgeschüttelt werden kann; siehe diesbezügliche Versuche Seite 42 ff.)

¹⁾ W. A. van Bronkhorst, Chemisch en physiologisch Onderzoek in Verband met de Alkaloiden van Aconitum napellus L. Diss. Universität Leyden (1934).

Anschließend werden nun die Totalalkaloide verseift und die Benzoessäure isoliert. Die entstandene Essigsäure wird durch 24stündiges Aufbewahren im Vakuumexsikkator entfernt. Darauf wird die Benzoessäure titriert. Aus dem Benzoessäuregehalt wird dann auf die anwesende Menge Aconitin geschlossen.

Bemerkungen zu dieser Methode

Diese Bestimmungsmethode wurde überprüft, indem Mischungen von verschiedenen Mengen Aconitin, Benzoylaconin und Aconin hergestellt und nach der Methode von *Bronkhorst* bestimmt wurden. Wie zu erwarten war, wurden sehr ungenaue Werte erhalten, da das Benzoylaconin in dieser Bestimmung ebenfalls als Aconitin berechnet wird, so dass bei der physiologischen Wertbestimmung die Resultate viel niedriger sind als die erhaltenen chemischen. Daher lässt sich diese Methode wohl in beschränktem Rahmen verwenden, wenn ein Präparat praktisch nur Aconitin enthält.

Da *Bronkhorst* seine erhaltenen chemischen Werte mit dem physiologischen Test verglichen hat und diese Resultate nach seinen Angaben übereinstimmen, so muss angenommen werden, dass er zu seinen Untersuchungen Präparate verwendet hat, die vermutlich nur Aconitin und möglicherweise noch Aconin, aber praktisch kein Benzoylaconin enthielten.

Untersuchung der Methode von Baker und Jordan¹⁾

Das Prinzip dieser Methode beruht auf der Trennung des Benzoylaconins vom Aconitin durch Herabsetzung der Löslichkeit des ersteren vermittels einer Pufferlösung.

Wir haben an Hand der Angaben von *Baker und Jordan* folgende Untersuchungen vorgenommen:

Zu einer neutralisierten, titrierten Alkaloidlösung fügt man in einem Scheidetrichter 50 cm³ der Pufferlösung (0,0159 n Ammoniak und 0,75 n Ammonchlorid) hinzu und extrahiert die Alkaloide durch viermaliges Schütteln während 10 Minuten mit je 25 cm³ Äther. Die vereinigten Ätherausschüttelungen versetzt man mit 10 cm³ 0,01 n Salzsäure, destilliert den Äther auf dem Wasserbad ab und bestimmt

¹⁾ G. Baker and D. Ch. B. Jordan, Journ. Am. Pharm. Assoc. 25, 291 ff. (1936).

den Säureüberschuss mit 0,01 n Natronlauge und Methylrot als Indikator. Die bei dieser Titration verbrauchte Anzahl Kubikzentimeter 0,01 n Salzsäure ist der substituierte Wert für y in der Gleichung. Die Berechnung des Aconitingehaltes erfolgt nach folgender Formel:

$$A = 7,236 \cdot (y - 0,1106) \cdot h$$

wobei $A = \text{mg Aconitin}$

$y = \text{Zahl der Kubikzentimeter 0,01 n Salzsäure, welche bei der Endtitration durch die Alkaloide gebunden werden}$

$h = \text{Gesamtalkaloide in mg berechnet als Aconitin}$

Wir haben nach dieser Methode mehrere Bestimmungen ausgeführt, wobei der Aconitin- und Benzoylaconingehalt jeweils variiert wurde. Dabei wurde an Hand der Resultate herausgefunden, dass das Mengenverhältnis zwischen Aconitin und Benzoylaconin so grossen Einfluss auf die Löslichkeit, bzw. Unlöslichkeit des Benzoylaconins mit der Pufferlösung im Äther ausübt, dass die erhaltenen Werte eine genaue Aconitinbestimmung kaum zulassen.

Bestimmung Nr.	%-Gehalt Aconitin	%-Gehalt Benzoyl- aconin	%-Gehalt des Benzoylaconins, das in den Äther übergeht, berechnet auf die Totalmenge Benzoylaconin
1	10	90	12,20
2	30	70	11,83
3	50	50	10,21
4	70	30	9,90
5	90	10	9,73

Obschon *Baker und Jordan* in der Berechnung ihrer Resultate einen Faktor einsetzen, welcher auf das in den Äther übergegangene Benzoylaconin Rücksicht nimmt, ist aus unseren Resultaten ersichtlich, dass die Berechnungen kaum genaue Werte ergeben können. Nach unseren Ergebnissen ist mit zunehmendem prozentualen Benzoylaconingehalt die Löslichkeit in Äther trotz der Einwirkung der Pufferlösung erhöht. Um daher genaue Werte zu erhalten, müsste

der Faktor mit zunehmender Proportion ebenfalls geändert werden, was aber die Genauigkeit der Resultate in Frage stellen würde. Dieselbe Versuchsreihe, wie schon vorher angegeben, wurde erneut mit Zusatz von alkaloidfreiem Aconitextrakt ausgeführt, wobei die vorgeschriebene Reinigung ebenfalls vorgenommen wurde. Es ergab sich dabei noch eine weitere Wertverschiebung, wobei aber die Ätherlöslichkeit weniger regelmässig mit steigendem Prozentgehalt an Benzoylaconin zunimmt. Ein Zusatz von Aconin zu diesen Versuchen hatte sich erübrigt, da unsere Untersuchungen deutlich ergeben haben, dass es aus einer wässrigen Lösung auf alle Fälle nicht in den Äther extrahiert werden kann. (Siehe Nachfolgendes.)

Eigene Untersuchungen:

Vorversuche zur Ausarbeitung einer Bestimmungsmethode von Aconitin aus den Gesamtalkaloiden

Die Bestimmungsmethode der Ph. H. V. erfasst wohl die Gesamtalkaloide, nimmt aber keine Rücksicht darauf, ob diese als reines Aconitin oder als ein Gemisch aus Aconitin, Benzoylaconin und eventuell Aconin vorliegen. Aus diesem Grunde gibt die oben angeführte Bestimmungsmethode keinen Aufschluss über die effektive Wirksamkeit eines Präparates aus Tuber Aconiti oder der Droge selbst. Bis anhin konnte darüber nur mit Hilfe physiologischer Wertbestimmungen Aufschluss erhalten werden. Unsere Untersuchungen gingen von der schon in der Einleitung erwähnten Tatsache aus, dass beim Aconitin die Acetyl- und Benzoylgruppe und beim Benzoylaconin die Benzoylgruppe durch Verseifung abgespalten werden kann.

Durch eine sich an die Bestimmung der Gesamtalkaloide anschließende quantitative Erfassung von Benzoe- und Essigsäure ergibt sich die Möglichkeit, zu berechnen, in welchem Verhältnis Aconitin und Benzoylaconin in den Gesamtalkaloiden vorliegen. Dies setzt aber voraus, dass das Aconin als praktisch unwirksamer Bestandteil der Gesamtalkaloide bei der sogenannten Gesamtalkaloidbestimmung überhaupt nicht mitbestimmt, respektive vorher schon eliminiert wird.

Es wurden deshalb Versuche unternommen, das Aconin von den beiden anderen Alkaloiden abzutrennen.

Da Aconin-Base in Äther sehr schlecht, in Wasser aber leicht löslich ist, wurden Ausschüttelungsversuche aus einer alkalischen, wässrigen Lösung von Aconin in Äther unternommen.

Eingewogene Menge Aconitin in g	Menge Lösungsmittel Aqua dest. in cm ³	Aethermenge	Rückstand aus Aether
0,208	5	5 × 25 g	nicht wägbar
0,213	10	5 × 50 g	nicht wägbar
0,224	20	5 × 75 g	nicht wägbar
0,252	50	5 × 100 g	nicht wägbar
0,240	100	5 × 200 g	nicht wägbar

Ausschüttelung von Aconin in Anwesenheit von Benzoylaconin und Aconitin aus Wasser in Äther:

Einwäge			Wasser in cm ³	Rückstand in g	Aconitin und Benzoylaconin berechnet
Aconin in g	Aconitin in g	Benzoylaconin in g			
0,052	0,105	0,107	5	0,211	0,212
0,056	0,112	0,112	10	0,222	0,224
0,042	0,142	0,056	20	0,196	0,198
0,038	0,160	0,048	50	0,199	0,208
0,049	0,202	0,062	75	0,263	0,264
0,061	0,197	0,070	100	0,266	0,267

Zur Untersuchung, ob eventuell bei Anwesenheit von Extraktbestandteilen Aconin doch in Äther übergehen könnte, wurde ein von Alkaloiden befreites Extrakt mit Aconin, Aconitin, Benzoylaconin systematisch gemischt und daraus die Alkaloide ausgeschüttelt. Zu diesem Zweck wurde das alkaloidfreie Extrakt jeweils mit den

Alkaloiden gemischt, in der in der Tabelle angegebenen Menge Wasser gelöst und mit 15 cm³ 25 %igem Ammoniak alkalisch gemacht und fünfmal mit 20 cm³ ausgeäthert.

Ausschüttelung von Aconin aus Wasser in Äther in Anwesenheit von alkaloidfreiem Aconitextrakt:

Aconin in g	Extrakt in g	Wasser in cm ³	Rückstand in g
0,055	1,0	5	0,002
0,052	5,0	10	0,003
0,059	7,5	20	nicht wägbare
0,061	10,0	50	nicht wägbare
0,047	15,0	75	nicht wägbare
0,051	20,0	100	nicht wägbare

Die beiden wägbaren Rückstände wurden in Wasser gelöst; die Reaktion der Lösung war neutral und nach Zugabe von Mischindikator erzeugte schon ein kleiner Tropfen 0,1 n Salzsäure den Umschlag des Indikators. Es ist anzunehmen, dass dieser Rückstand aus neutralen Extraktbestandteilen besteht, welche in den Äther übergegangen sind.

Ausschüttelung von Aconin neben Aconitin und Benzoylaconin in alkaloidfreiem Extrakt aus Wasser in Äther:

Aconin in g	Aconitin in g	Benzoyl- aconin in g	Extrakt in g	Wasser in cm ³	Rückstand in g	Aconitin und Benzoylaconin berechnet in g
0,159	0,053	0,068	10,0	5	0,118	0,121
0,128	0,072	0,051	12,5	10	0,116	0,123
0,075	0,018	0,022	15,0	20	0,038	0,040
0,026	0,051	0,061	17,5	50	0,110	0,112
0,036	0,062	0,063	20,0	75	0,124	0,125
0,055	0,058	0,059	30,0	100	0,117	0,117

Es ist hier festzustellen, dass die Werte meist etwas unter dem Totalgewicht von Aconitin und Benzoylaconin liegen. Es ist anzunehmen, dass hier, wie in der vorstehenden Tabelle, wo grössere Mengen Wasser zur Lösung des Extraktes verwendet wurden, keine Extraktbestandteile mit in den Äther übergangen.

Aus den Versuchsreihen 1 bis 4 ist deutlich ersichtlich, dass kein Aconin aus einer wässrigen Lösung heraus in den Äther ausgeschüttelt werden kann, und zwar auch dann nicht, wenn Extraktbestandteile vorhanden sind. Es ist daher mit Bestimmtheit anzunehmen, dass bei der Bestimmung der Gesamtalkaloide des Extraktes im Ätherauszug der Alkaloide *nur Aconitin und Benzoylaconin, aber kein Aconin* vorhanden ist. Zum Nachweis der Aconinrückstände in der wässrigen, extrahierten Extraktlösung wurden zwei Reaktionen ausgeführt:

a) Mit *Mayers* Reagens wurde eine Fällung erhalten.

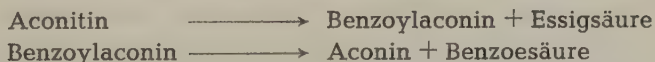
b) Nachweis mit dem Reagens nach *Palet*:

Mit einem Tropfen des Reagens (= Lösung von 1 g Natriummolybdat in 25 cm³ Phosphorsäure konz.) geht Aconin von purpurrot-violett in grün und schliesslich in dunkelgrün über. Vergleichsweise wurde dieselbe Reaktion mit Aconitin und Benzoylaconin ausgeführt:

Aconitin geht dabei von dunkelrot in schwarz über,
Benzoylaconin von rot in dunkelbraun.

Versuch zur quantitativen Bestimmung von Aconitin

Aus der Konstitution des Aconitins ist bis jetzt als charakteristisches Merkmal festgestellt worden, dass es sich um einen Acetyl- und Benzoylester des Aconitins handelt. Bei der Verseifung des Aconitins entstehen dabei folgende Produkte:



Bei der Verseifung werden also zwei verschiedene Säuren freigesetzt. Von dieser Feststellung ausgehend wurde nun versucht, diese Säuren quantitativ zu erfassen und an Hand der titrierten freien Säuren die Aconitinmenge zu bestimmen.

Es wurde nach folgender Methode vorgegangen:

Eine bestimmte Menge Aconitin-Base wurde in einen Erlenmeyer von 100 cm^3 eingewogen und 10 cm^3 $0,1\text{ n}$ Schwefelsäure (genau gemessen) vorgelegt. Dann wurde mit $0,1\text{ n}$ Natronlauge zurücktitriert. Diese neutralisierte Lösung wurde mit 10 cm^3 5%iger Natronlauge versetzt und 30 Minuten am Rückflusskühler auf dem Wasserbad gekocht. Nach der Abkühlung wurde die Lösung quantitativ in einen Destillationskolben übergeführt und mit wenig Wasser nachgespült. Zu der Lösung wurden nun 20 cm^3 konzentrierte Schwefelsäure hinzugefügt und während zwei Stunden mit Wasserdampf destilliert. Dabei wurde die Vorlage mit wenig Wasser beschickt und das Ende des Kühlers unter die Wasseroberfläche eingetaucht. Es wurden dabei ungefähr 75 cm^3 Destillat aufgefangen. Das Destillat wurde mit $0,1\text{ n}$ Natronlauge und mit 15 Tropfen Phenolphthalein als Indikator titriert.

Aus den Resultaten ergab sich aber, dass die Titrationsresultate zu hoch ausfielen, das heisst, dass wesentlich mehr als die doppelte Menge Lauge für die Titration der Säure verwendet werden musste, als ursprünglich Säure für die Neutralisation des Aconitins nötig war. Es wurde vermutet, dass die Apparatur für diese Bestimmungsmethode ungeeignet war und dass Schwefelsäure mitgerissen wurde. Dies konnte durch Zugabe von Bariumnitrat zum Destillat bestätigt werden, indem eine deutliche Trübung von Bariumsulfat auftrat.

Zu den weiteren Versuchen wurden der Stickstoffbestimmungsapparat nach Parnas verwendet. Der grosse Vorteil dieser Apparatur besteht darin, dass der gesamte Destillationsvorgang sich in einem geschlossenen Kreislauf abspielt.

Auch hier waren die ursprünglichen Resultate zu hoch, und es musste angenommen werden, dass unter dem Einfluss der relativ konzentrierten Schwefelsäure-Bildung flüchtiger saurer Zersetzungsprodukte, Zersetzung des Destillationsrückstandes eintrat.

Um alle diese schädlichen Faktoren zu eliminieren, wurde versuchsweise an Stelle von Schwefelsäure konzentrierte Phosphorsäure zugesetzt. Das Mengenverhältnis zwischen Phosphorsäure und Destillationsflüssigkeit wurde so berechnet, dass in bezug auf Phosphorsäure eine 30%ige Lösung entstand. Die Resultate, welche nach dieser abgeänderten Methode erhalten wurden, erwiesen sich als sehr genau. Es wurden daher sämtliche weiteren Versuche in dieser Weise mit Phosphorsäure durchgeführt.

Tabelle Nr. II

Bestimmung von Aconitin nach der Wasserdampfdestillationsmethode

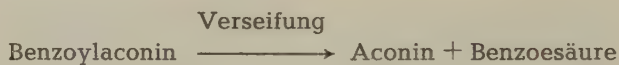
Versuch Nr.	Einwage Aconitin in g	Vor der Wasserdampfdestillation			Nach der Wasserdampfdestillation	
		verbrauchte 0,1 n Natronlauge in cm ³	entsprechend 0,1 n Schwefelsäure in cm ³	entsprechend Aconitin in g	0,1 n Natronlauge in cm ³	entsprechend Aconitin in g
1	0,1049	8,39	1,61	0,1040	3,20	0,1032
2	0,1256	8,06	1,94	0,1255	3,87	0,1250
3	0,1010	8,43	1,57	0,1008	3,14	0,1007
4	0,1140	8,23	1,77	0,1140	3,53	0,1139
5	0,1205	8,13	1,87	0,1204	3,73	0,1203
6	0,0998	8,46	1,54	0,0995	3,05	0,0984
7	0,1620	7,54	2,46	0,1620	4,92	0,1620
8	0,1150	8,22	1,78	0,1148	3,56	0,1148
9	0,1401	7,83	2,17	0,1399	4,34	0,1399
10	0,1212	8,12	1,88	0,1212	3,76	0,1212
11	0,0985	8,47	1,53	0,0984	3,06	0,0984
12	0,1002	8,45	1,55	0,1000	3,09	0,0998

Bemerkungen zu den erzielten Resultaten:

Obschon nicht alle erhaltenen Werte völlig genau der eingewogenen Menge Aconitin entsprechen, ist die Fehlergrenze so klein, dass die Methode als gut angesprochen werden kann. Es ist aber darauf zu achten, dass jeweils vor Beginn der Destillation das Wasser, welches zum Auffangen des Destillates vorgelegt wird, mit Natronlauge und Phenolphthalein als Indikator bis zur Rosafärbung neutralisiert wird.

Bestimmung von Benzoylaconin nach der Wasserdampfdestillationsmethode

Analog der bei Aconitin angegebenen Versuchsmethode wurde das Benzoylaconin titriert, verseift und durch Wasserdampfdestillation die Benzoessäure übergetrieben. Im Gegensatz zu Aconitin entspricht ein Mol Säure einem Mol Benzoylaconin, da die Reaktion sich folgendermassen abspielt:



Siehe Tabelle Nr. III

Aus den nachstehenden Werten ist ersichtlich, dass die Bestimmungsmethode auch für Benzoylaconin zuverlässig ist. Zur Berechnung der Resultate ist zu bemerken, dass hier im Gegensatz zum Aconitin bei der Wasserdampfdestillation auf 1 Mol Benzoylaconin 1 Mol Benzoessäure frei wird. Die Kontrolle der Titrationswerte ist daher sehr einfach, indem das Titrationsresultat nach der Wasserdampfdestillation genau mit dem Resultat der Titration des Alkaloides übereinstimmen muss.

Bestimmung von Benzoylaconin nach der Wasserdampfdestillationsmethode

Versuch Nr.	Einwage Benzoyl- aconin in g	Vor der Wasserdampfdestillation			Nach der Wasserdampfdestillation	
		verbrauchte 0,1 n Natronlauge in cm ³	entsprechend 0,1 n Schwefelsäure in cm ³	entsprechend Benzoyl- aconin in g	0,1 n Natronlauge in cm ³	entsprechend Benzoyl- aconin in g
1	0,1024	8,30	1,70	0,0200	1,70	0,1024
2	0,1002	8,34	1,66	0,0500	1,65	0,0933
3	0,0300	9,50	0,50	0,0616	0,49	0,0298
4	0,0422	9,30	0,70	0,0591	0,70	0,0422
5	0,0532	9,12	0,88	0,0496	0,88	0,0531
6	0,0680	8,87	1,13	0,0541	1,13	0,0680
7	0,0543	9,10	0,90	0,0680	0,90	0,0540
8	0,0499	9,18	0,82	0,0531	0,81	0,0488
9	0,0591	9,08	0,98	0,0422	0,98	0,0591
10	0,0617	8,98	1,02	0,0299	1,06	0,0616
11	0,0510	9,16	0,84	0,1002	0,83	0,0501
12	0,0702	8,84	1,16	0,1024	1,16	0,0700

Bestimmung der Mischungen von Aconitin und Benzoylaconin nach der Wasserdampfdestillationsmethode

Um eine genaue Kontrolle der Einzelwerte zu erhalten, wurden die beiden Alkaloide einzeln eingewogen, dann vermischt und wie üblich titriert. Darauf wurden die Lösungen, wie schon vorher beschrieben, behandelt und die Destillation ausgeführt.

Da aus den Aconinausschüttelungen ersichtlich war, dass kein Aconin in den Äther übergeht, wurde es als überflüssig erachtet, Aconin in diese Bestimmung einzubeziehen.

Um aus den Titrationswerten und der Alkaloideinwage das prozentuale Verhältnis zwischen Benzoylaconin und Aconitin zu bestimmen, wurde folgende Formel abgeleitet:

1 Mol Aconitin entspricht 2 Mol Säure bei der Wasserdampfdestillation;

1 Mol Benzoylaconin entspricht 1 Mol Säure bei der Wasserdampfdestillation.

Auf Grund dieser Überlegungen ergab sich die Formel folgendermassen:

$$(2a - b) : a = x : 100$$

wobei a die Anzahl Kubikzentimeter darstellt, welche zur Titration der Gesamtalkaloide benötigt werden,

b die Anzahl Kubikzentimeter, welche zur Titration der bei der Wasserdampfdestillation freigewordenen Säuren entsprechen,

x dem Prozentgehalt an Benzoylaconin, berechnet auf den Gesamtalkaloidwert.

Tabelle Nr. IV

*Bestimmung der Mischungen von Aconitin und Benzoylaconin
nach der Wasserdampfdestillationsmethode*

Versuch Nr.	Einwäge		Vor der Wasserdampfdestillation			Nach der Wasserdampfdestillation	
	Aconitin in g	Benzoyl- aconin in g	verbrauchte 0,1 n Natronlauge in cm ³	entsprechend 0,1 n Schwefelsäure in cm ³	entsprechend Aconitin und Benzoylaconin in g	0,1 n Natronlauge in cm ³	entsprechend Benzoylaconin in % der Gesamtalkaloide in g
1	0,1015	0,0583	7,46	2,54	0,1597	4,10	38,58 0,0581
2	0,1121	0,0543	7,35	2,65	0,1661	4,38	34,72 0,0541
3	0,1110	0,0498	7,45	2,55	0,1602	4,25	29,41 0,0486
4	0,1192	0,0586	7,18	2,82	0,1778	4,67	34,40 0,0586
5	0,0997	0,0522	7,59	2,41	0,1518	3,96	35,68 0,0520
6	0,0992	0,0601	7,47	2,53	0,1593	4,05	39,92 0,0598
7	0,1224	0,0569	7,17	2,83	0,1790	4,71	33,57 0,0561
8	0,1007	0,0501	7,61	2,39	0,1506	3,95	34,73 0,0501
9	0,1266	0,0642	6,97	3,03	0,1908	4,99	35,31 0,0642
10	0,1320	0,0742	6,72	3,28	0,2062	5,28	39,02 0,0742
11	0,1083	0,0705	7,15	2,85	0,1788	4,51	41,75 0,0693
12	0,1463	0,0623	6,70	2,30	0,2086	5,56	31,51 0,0620

Um Anhaltspunkte über das Verhalten der Alkaloide in ihrer natürlichen Umgebung ausfindig zu machen, wurde zu einer weiteren Versuchsreihe alkaloidfreier Aconitextrakt zugesetzt. Es wurden hier, analog den ersten Versuchen Proben mit Aconitin, Benzoylaconin und Mischungen der beiden unternommen. Schon bei den ersten Versuchen mit Aconitin musste aber festgestellt werden, dass der Zusatz von Extraktbestandteilen sich auf das Verhalten der Lösung während der Wasserdampfdestillation sehr ungünstig auswirkte. Gewisse Bestandteile der Droge bewirken in saurem Milieu bei der Wasserdampfdestillation eine sehr starke Schaumbildung. Obschon durch vorsichtigeres Erhitzen und zeitweiliges Abstellen der Flamme unter dem Kolben diese Wirkung herabgesetzt wurde, erwies es sich als unmöglich, auf diesem Weg zu einer genauen Bestimmung zu kommen, da mit dem Wasserdampf auch Säure mitgerissen wurde. Es stellte sich nun die Frage, wie diese Schaumbildung herabgesetzt oder völlig aufgehoben werden könne. Mit einer kleinen Probe wurde versucht, den Säuregehalt herabzusetzen. Dies wirkte sich zwar sehr günstig auf die Schaumbildung aus, hatte aber zur Folge, dass die abgespaltene Säure, speziell die Essigsäure, nicht quantitativ übergetrieben werden konnte. Bei einem weiteren Versuch wurde die alkalische, verseifte Lösung der Alkaloide vor der Säurezugabe stark eingeeengt, so dass nach Zusatz der Phosphorsäure der Säuregehalt 60 bis 65%ig war. Dies erwies sich hier als günstig, und die weiteren Bestimmungen wurden so ausgeführt, dass vor Beginn der Wasserdampfdestillation die Lösung etwas eingeeengt wurde. Dann wurde durch gleichzeitiges Erhitzen des Wasserdampfkolbens und des Lösungskolbens das Lösungsvolumen dauernd auf gleichem Niveau gehalten. Das Erhitzen bei dieser Konzentration ist sehr vorsichtig auszuführen, und es muss darauf geachtet werden, dass überall gleichmässig erwärmt wird, da sonst Gefahr besteht, dass die zu destillierende Lösung anbrennt.

Diese Methode erwies sich beim eigentlichen Aconitextrakt aber als ungünstig. Es stellte sich daher die Frage, auf welche Weise, womöglich durch Zusatz von oberflächenaktiven Substanzen, die starke Schaumbildung vermindert oder völlig aufgehoben werden könnte. Die ersten Versuche in dieser Richtung wurden durch Zusatz von Stearinsäure ausgeführt. Die Stearinsäure erwies sich hier als

günstig, indem die Schaumbildung völlig aufgehoben wurde. Leider war dieser Zusatz nicht verwertbar, da durch die Wasserdampfdestillation die Stearinsäure in Spuren mitgerissen wird und so die Resultate bei der Titration stark beeinflusst.

Aus der Arbeit von *Dolder*¹⁾ über die Schaumbekämpfung bei der Destillation wurden wir auf Octylalkohol aufmerksam gemacht. Die Versuche mit Zusatz von etwa 1 bis 2 % Octylalkohol erwiesen sich über eine kurze Zeitspanne hinweg als sehr günstig, da trotz der relativen Flüchtigkeit des Octylalkohols die Resultate bei der Titration nicht beeinflusst wurden. Bei längeren Destillationen, wie dies bei unseren Versuchen meistens der Fall war, erforderte es jeweils mehrfache Zusätze von Octylalkohol, was insofern sehr unpraktisch war, als während der Wasserdampfdestillation der Apparat wieder geöffnet werden musste und die Gefahr von Verlusten nicht zu vermeiden war. Wir sahen uns daher gezwungen, weitere Versuche auszuführen. Unsere Wahl fiel auf Paraffinum subliquidum, von dem wir pro Versuch 2 bis 3 cm³ vor Beginn der Wasserdampfdestillation zusetzten. Obwohl es nicht zu vermeiden ist, dass ein schwaches zeitweises Schäumen einsetzt, ist dieser Zusatz trotzdem der weitaus günstigste, da Paraffinöl absolut neutral und nicht flüchtig ist. Es wurden daher zu allen weiteren Bestimmungen des Extraktes und auch der Tinktur dieses Verfahren angewendet. Die Wasserdampfdestillation wurde, wie schon früher beschrieben, so lange ausgeführt, bis etwa 1400 cm³ Destillat übergegangen waren.

¹⁾ *R. Dolder*, *Galenica Monatsnachrichten*, 313 ff. (1948).

Tabelle Nr. V

*Bestimmung von Aconitin unter Zusatz von alkaloidfreiem
Aconitextrakt nach der Wasserdampfdestillationsmethode*

Versuch Nr.	Einwage		Vor der Wasserdampfdestillation			Nach der Wasserdampfdestillation	
	Aconitin in g	alkaloidfreies Aconitextrakt in g	verbrauchte 0,1 n Natronlauge in cm ³	entsprechend 0,1 n Schwefelsäure in cm ³	entsprechend Aconitin in g	0,1 n Natronlauge in cm ³	entsprechend Aconitin in g
1	0,0986	0,5	8,47	1,53	0,0985	3,06	0,0984
2	0,0827	1,0	8,72	1,28	0,0824	2,55	0,0822
3	0,0902	1,5	8,61	1,39	0,0901	2,76	0,0890
4	0,0912	2,0	8,59	1,41	0,0908	2,82	0,0908
5	0,0987	2,5	8,48	1,52	0,0981	3,04	0,0981
6	0,0899	3,0	8,61	1,39	0,0898	2,75	0,0887
7	0,1062	3,5	8,36	1,64	0,1062	3,28	0,1062
8	0,1043	4,0	8,38	1,62	0,1043	3,24	0,1043
9	0,1021	4,5	8,42	1,58	0,1019	3,15	0,1016
10	0,1183	5,0	8,17	1,83	0,1183	3,66	0,1183
11	0,0942	7,5	8,54	1,46	0,0941	2,91	0,0939
12	0,1065	10,0	8,36	1,64	0,1059	3,28	0,1059

Tabelle Nr. VI

*Bestimmung von Benzoylaconin unter Zusatz von alkaloidfreiem
Aconitextrakt nach der Wasserdampfdestillationsmethode*

Versuch Nr.	Einwäge		Vor der Wasserdampfdestillation			Nach der Wasserdampfdestillation	
	Benzoyl- aconin in g	alkaloidfreier Aconitextrakt in g	verbrauchte 0,1 n Natronlauge in cm ³	entsprechend 0,1 n Schwefelsäure in cm ³	entsprechend Benzoylaconin in g	0,1 n Natronlauge in cm ³	entsprechend Benzoylaconin in g
1	0,0483	0,25	9,20	0,80	0,0482	0,80	0,0482
2	0,0316	0,50	9,48	0,52	0,0312	0,51	0,0307
3	0,0547	0,75	9,10	0,90	0,0543	0,90	0,0543
4	0,0682	1,00	8,87	1,13	0,0681	1,12	0,0674
5	0,0491	2,00	9,19	0,81	0,0490	0,80	0,0482
6	0,0504	3,00	9,16	0,84	0,0504	0,84	0,0504
7	0,0511	4,00	9,15	0,85	0,0510	0,85	0,0510
8	0,0520	5,00	9,14	0,86	0,0520	0,86	0,0520
9	0,0539	7,50	9,12	0,88	0,0531	0,87	0,0524
10	0,0598	10,00	9,19	0,81	0,0488	0,81	0,0488
11	0,0509	0,33	9,16	0,84	0,0507	0,83	0,0501
12	0,0525	0,33	9,13	0,87	0,0524	0,87	0,0524

nach der Wasserdampfdestillationsmethode

Versuch Nr.	Einwaage		Alkaloid- freier Extrakt in g	Vor der Wasserdampfdestillation			Nach der Wasserdampfdestillation		
	Aconitin in g	Benzoyl- aconin in g		0,1 n Natronlauge in cm ³	entsprechend 0,1 n Schwefelsäure in cm ³	entsprechend Aconitin und Benzoylaconin in g	0,1 n Natronlauge in cm ³	Gehalt Benzoylaconin in % in g der Gesamtalkaloide	
1	0,1026	0,0439	1,0	7,68	2,32	0,1462	3,91	31,47	0,0437
2	0,1035	0,0621	2,0	7,37	2,63	0,1655	4,21	39,92	0,0614
3	0,1102	0,0531	3,0	7,42	2,58	0,1627	4,29	33,72	0,0527
4	0,0980	0,0502	4,0	7,65	2,35	0,1479	3,87	35,32	0,0498
5	0,1005	0,0493	5,0	7,62	2,38	0,1498	3,92	35,29	0,0484
6	0,1213	0,0508	6,0	7,28	2,72	0,1720	4,57	31,99	0,0496
7	0,1026	0,0514	7,0	7,56	2,44	0,1539	4,02	35,25	0,0514
8	0,1057	0,0543	8,0	7,46	2,54	0,1599	4,16	36,22	0,0542
9	0,1194	0,0479	9,0	7,38	2,62	0,1660	4,40	32,06	0,0470
10	0,1009	0,0512	10,0	7,59	2,41	0,1520	3,95	36,10	0,0512
11	0,0987	0,0601	15,0	7,47	2,53	0,1588	4,04	40,32	0,0596
12	0,0996	0,0490	20,0	7,65	2,35	0,1484	3,89	34,47	0,0488

Besprechung der Resultate

Um möglichst verschiedene Versuchsbedingungen zu erreichen, wurden die Aconitin-, Benzoylaconin- und Mischbestimmungen der beiden mit stark variierendem Zusatz von alkaloidfreiem Aconitextrakt ausgeführt. Es stellte sich dabei heraus, dass der Einfluss der Extraktmenge im Verhältnis zum Alkaloidgehalt praktisch bedeutungslos ist. Die prozentuale Streuung innerhalb der einzelnen Resultatgruppen ist sehr gering. Immerhin muss hier erneut festgestellt werden, dass die ursprüngliche Extraktion der Gesamtalkaloide von sehr grosser Bedeutung ist für den weiteren Verlauf der Bestimmung. Es ist nötig, dass die Alkaloidlösung möglichst rein zur Aconitinbestimmung gelangt, um zu vermeiden, dass die zurückgebliebenen Ballaststoffe infolge der Schaumbildung störend auf die Wasserdampfdestillation einwirken. Da die bisher beschriebene Reinigungsmethode nicht den völlig idealen Fall ergibt, wurde, allerdings ohne Erfolg, noch eine weitere Reinigung versucht:

Die bereits gereinigte Lösung wurde unter Zusatz von Alkohol durch eine Aluminiumoxydsäule gegossen und während fünf Stunden darin stehengelassen. Dann wurde mit einer Mischung von fünf Teilen Methanol plus 95 Teilen Äthanol die Säule ausgewaschen. Die Lösung wurde auf dem Wasserbad abdestilliert, und es war deutlich festzustellen, dass Ballaststoffe in der Säule zurückgeblieben waren. Leider ergab aber das Titrationsresultat dieses Rückstandes zu tiefe Werte (Verluste zwischen 10 bis 15 %), so dass diese Methode wohl als Reinigung bei qualitativen Untersuchungen dienen kann, für quantitative Bestimmungen aber nicht verwertbar ist.

Um die Essigsäure und Benzoesäure quantitativer zu erfassen, ist es ratsam, im Durchschnitt 1200 bis 1400 cm³ Destillat aufzufangen. Um Säureverluste zu vermeiden, muss das Destillat unter Wasser aufgefangen werden. Dabei muss das vorgelegte Wasser, wie schon erwähnt, vor der Benützung unter Zusatz von Phenolphthalein als Indikator mit 0,1 n Natronlauge bis zur schwachen Rosafärbung titriert werden. Sobald dieser Punkt erreicht ist, wird noch ein Tropfen 0,1 n Natronlauge mehr zugesetzt. Dieser Zusatz erwies sich als nötig — und wurde durch einige Blindversuche ermittelt —, um die während der Destillation durch das Destillat aufgenommene Kohlensäure auszuschalten.

Es ist weiter von grosser Bedeutung, dass die zur Wasserdampfdestillation gelangte Lösung mit der Phosphorsäure zusammen höchstens ein Fünftel des Gesamtvolumens des Destillierkolbens einnimmt. Durch diese Massnahme wird die Gefahr des Mitreissens von feinen Tröpfchen der Lösung vermieden, welche zur völligen Verfälschung der Titrationsresultate führen würde. Um eine eindeutige Kontrolle über diese Fehlerquelle zu haben, wurde folgende Reaktion verwendet:

Etwa 100 cm^3 des Destillates werden in einer Schale auf ungefähr 10 cm^3 eingeengt. Diese Lösung wird mit verdünnter Salpetersäure angesäuert, mit einer frischen, konzentrierten Ammonmolybdatlösung versetzt und vorsichtig erwärmt. Bei Anwesenheit von Phosphorsäure ergibt sich eine stark gelbe Fällung.

Versuch zur Bestimmung des Aconitingehaltes im Extractum Aconiti mit Hilfe der Wasserdampfdestillationsmethode

Auf Grund der vorher gemachten Untersuchungen wurden nun in wechselnder Menge Aconitextrakt mit dieser Methode auf ihren Aconitingehalt hin untersucht. Dabei wurden folgende Resultate erhalten:

Siehe Tabelle Seite 59

Aus diesen Resultaten ist ersichtlich, dass auch in einem Extrakt, der aus einer scheinbar qualitativ guten Droge gewonnen wurde, der Aconitingehalt zum Teil relativ niedrige Werte ergeben kann.

Weiter ist zu bemerken, dass sich die ausgearbeitete Bestimmungsmethode als recht günstig ausweist, da die Streuung innerhalb der einzelnen Bestimmungen sehr gering ist. Immerhin muss doch darauf hingewiesen werden, dass gewisse Verschiebungen je nach der verwendeten Extraktmenge festzustellen sind. Am günstigsten erwies sich dabei eine Einwage von $5,0\text{ g}$ Aconitextrakt.

Über die Genauigkeit der auf diese Weise erhaltenen Aconitinwerte gibt der toxikologische Teil dieser Arbeit genaueren Aufschluss.

Tabelle Nr. VIII

Bestimmung von Aconitextrakt nach der Wasserdampfdestillationsmethode

Versuch Nr.	Einwäge			entsprechend g Extrakt, die zur Bestimmung gelangen	Vor der Wasserdampfdestillation		Nach der Wasserdampfdestillation		
	Eingewogene Menge Extrakt in g	Verwendete Menge Aether in g	Abgewogene Menge Aether in g		0,1 n Schwefelsäure in cm ³	%-Gehalt Alkaloide als Aconitin berechnet	0,1 n Natronlauge in cm ³	%-Gehalt Benzoyl- aconin	%-Gehalt Aconitin
1	5,0	100	95	4,75	1,39	1,88	2,02	54,45	45,55
2	5,0	100	96	4,80	1,38	1,85	2,01	53,90	46,10
3	5,0	100	96	4,80	1,40	1,88	2,04	54,28	45,72
4	5,0	100	94	4,70	1,38	1,89	2,01	54,65	45,35
5	5,0	100	92	4,60	1,41	1,97	2,05	54,72	45,28
6	5,0	100	93	4,65	1,40	1,94	2,04	53,98	46,08
7	5,0	100	94	4,70	1,42	1,95	2,07	54,15	45,85
8	5,0	100	95	4,75	1,38	1,87	2,00	54,74	45,26
9	5,0	100	93	4,65	1,39	1,93	2,01	54,53	45,47
10	5,0	100	93	4,65	1,41	1,95	2,05	54,44	45,56
11	10,0	100	91	9,10	2,80	1,97	4,08	54,17	45,83
12	10,0	100	94	9,40	2,82	1,93	4,12	53,90	46,10
13	10,0	100	96	9,60	2,79	1,87	4,05	54,76	45,24
14	10,0	100	93	9,30	2,83	1,96	4,11	54,63	45,37
15	10,0	100	97	9,70	2,79	1,87	4,05	54,79	45,21
16	2,5	100	96	2,40	0,70	1,88	1,02	54,12	45,88
17	2,5	100	96	2,40	0,71	1,91	1,03	54,57	45,43
18	2,5	100	95	2,38	0,71	1,92	1,03	54,75	45,25
19	2,5	100	94	2,35	0,69	1,89	1,01	54,11	45,89
20	2,5	100	94	2,35	0,69	1,89	1,01	53,97	46,07

Vorschrift für die Bestimmung von Aconitin in Extractum Aconiti

Aus allen vorhergehenden Versuchen ergibt sich nun folgende detaillierte Vorschrift für die Bestimmung des Aconitingehaltes:

a) Bestimmung der Gesamtalkaloide (ohne Aconin)

5 g Aconitextrakt werden in 10 cm³ Aqua dest. unter vorsichtigem Erwärmen auf dem Wasserbad bei einer maximalen Temperatur von 45 bis 50° gelöst. Nachdem sich so ein «Fluidextrakt» gebildet hat, werden 15 cm³ 25 %iger Ammoniak zugegeben und mit 100 g Äther in einem gut verschlossenen Erlenmeyerkolben während 30 Minuten ausgeschüttelt. Um einen Überdruck zu vermeiden ist es günstig, nach zwei bis drei Minuten Ausschüttelung den Kolben zu öffnen und dann wieder gut zu verschliessen. Es werden nun 5 g Tragant zugegeben, kurz geschüttelt und die Lösung stehengelassen, bis sich der Tragant-Extrakt-Klumpen abgesetzt hat. Dann wird die ätherische Lösung durch einen Papierfilter gegossen, welcher mit einem Uhrglas bedeckt ist, und die ätherische Lösung abgewogen. Der Äther wird fünfmal mit je 10 cm³ 0,1 n Schwefelsäure ausgeschüttelt, der Äther verworfen und die wässrige Alkaloidlösung mit 2,5 cm³ 25 %igem Ammoniak alkalisch gemacht. Diese Lösung wird nun fünfmal mit je 20 cm³ Äther ausgeschüttelt, die ätherischen Lösungen vereinigt und der Äther auf dem Wasserbad abdestilliert. Der Rückstand wird einmal in 5 cm³ Äther gelöst und der Äther abdestilliert; dann wird einmal mit 5 cm³ Alkohol analog verfahren. Der Rückstand wird nun in 10 cm³ Spiritus fünf Minuten lang auf dem Wasserbad unter häufigem Umschwenken leicht erwärmt. Nun werden genau 10 cm³ 0,1 n Schwefelsäure und der Mischindikator (8 Tropfen Methylrot plus 2 Tropfen einer alkoholischen Methylenblaulösung 1 : 1000) zugesetzt und mit 0,1 n Natronlauge bis zum Farbumschlag zurücktitriert (vorgängig ist mit 10 cm³ Spiritus ein Blindversuch auszuführen).

b) Bestimmung der Anteile Aconitin und Benzoylaconin aus den Gesamtalkaloiden

Die titrierte Gesamtalkaloidlösung wird mit 10 cm³ 5 %iger Natronlauge alkalisch gemacht und 30 Minuten lang am Rückflusskühler auf dem Wasserbad verseift. Nach dem Erkalten der Lösung wird

diese in den Destillierkolben eines Stickstoffbestimmungsapparates nach Parnas gegossen, der Kühler und das Verseifungskölbchen mit Wasser ausgespült und der Lösung im Kolben zugegeben. Es werden 35 cm³ konzentrierte Phosphorsäure ($d = 1,7$) und 3 cm³ Paraffinöl zugesetzt und die Wasserdampfdestillation ausgeführt. Das Destillat wird in einem 1,5-lt-Erlenmeyerkolben aufgefangen, in welchem Aqua dest. vorgelegt wird, welches vorgängig mit 0,1 n Natronlauge bis zum Umschlag auf Phenolphthalein titriert und mit einem Tropfen 0,1 n Natronlauge im Überschuss versetzt wurde. Es werden 1200 bis 1400 cm³ Destillat aufgefangen und mit 0,1 n Natronlauge bis zum Umschlag auf Phenolphthalein titriert.

Die diesbezügliche Resultatberechnung siehe Seite 50 ff.

Anwendung der Wasserdampfdestillation zur Wertbestimmung von Tinctura Aconiti Ph. H. V.

Die zu unseren Untersuchungen verwendete Tinktur war ein Präparat, welches nach Beendigung der Extraktdarstellung hergestellt und nach Ph. H. V. auf 0,05 % Alkaloidgehalt eingestellt worden war.

Zu den Bestimmungen wurden entsprechend unseren Extraktversuchen variierende Mengen Tinktur verwendet. In Abänderung der Vorschrift der Ph. H. V. über die Bestimmung der Tinctura Aconiti wurden die hier angegebenen Versuche vor der Extraktion mit Äther nicht auf dem Wasserbad, sondern im Vakuum eingeengt.

Die zu den Bestimmungen verwendete Tinktur war ein Jahr alt. Aus den nachstehend angeführten Resultaten geht hervor, dass also innert einem Jahr die Gesamtalkaloide nicht abgenommen haben, hingegen ging der Aconitingehalt der Gesamtalkaloide von 46 % auf 21 % herunter. Die reelle Wertabnahme dieser Tinktur in bezug auf Wirksamkeit beträgt also mehr als 50 %. Dadurch wird erneut deutlich bewiesen, dass entweder ein Aconit-Trockenextrakt zur jeweiligen Tinkturdarstellung verwendet werden sollte oder es müsste eine abgeänderte Vorschrift für die Darstellung einer stabilen Tinctura Aconiti ausgearbeitet werden.

Zur erneuten Kontrolle der chemischen Methode wurde auch diese Tinktur im Tierversuch austestiert. Sie ergab, wie aus den Resultaten im nachfolgenden toxikologischen Kapitel ersichtlich ist,

gute Übereinstimmung mit den Aconitinwerten, welche durch die chemische Bestimmungsweise ermittelt worden waren.

Bei der Extraktion der Alkaloide wurde festgestellt, dass es sich günstig auswirkt, wenn die Ausschüttelung mit Äther während längerer Zeit durchgeführt wird, als dies beim Extrakt normalerweise der Fall war. Dies wurde durch die Tatsache bewiesen, dass die ersten Titrationswerte bedeutend niedriger waren, als diejenigen, welche dann zur Wasserdampfbestimmung verwendet wurden. Im Gegensatz zum Extrakt sind die Ballaststoffe hier beträchtlich weniger ätherlöslich, so dass viel rascher eine relativ klare und saubere Alkaloidlösung erhalten werden kann. Trotz allem ist es ratsam, die zweite Reinigung, wie sie zur Bestimmung des Extraktes angegeben wurde, auch in diesem Falle durchzuführen. In Abänderung der üblichen Reinigung wurde bei der Tinktur versucht, mit einer Säule von Aluminiumoxyd ein besseres Resultat zu erzielen. Nach Durchfluss der Alkaloidlösung durch die Säule war die erhaltene Lösung praktisch farblos. Da aber zu tiefe Titrationswerte für die Gesamtalkaloide erhalten worden waren, ist anzunehmen, dass bei der Adsorption der Ballaststoffe auch teilweise Alkaloide zurückgehalten wurden, welche trotz nachfolgender Auswaschung der Säule nicht mehr zurückgewonnen werden konnten.

Die Bestimmung der Tinktur wird nach folgender Vorschrift ausgeführt:

100 g Aconittinktur werden im Vakuum auf etwa 10 cm³ eingeengt und nach der Bestimmungsvorschrift für Extractum Aconiti weiterbehandelt.

Die in den Tabellen auf Seite 63 in Klammern angeführten Werte beziehen sich auf die Prozentgehalte, welche beim Aconitextrakt gefunden worden waren, der vor Jahresfrist zur Herstellung dieser Tinktur gedient hatte.

Tabelle Nr. IX

Wasserdampfdestillationsbestimmung von *Tinctura Aconiti Ph. H. V.*

Versuch Nr.	Einwage			Ent- sprechend <i>Tinctura</i> <i>Aconiti</i> , die zur Bestimmung gelangen	Vor der Wasserdampfdestillation		Nach der Wasserdampfdestillation		
	Ein- gewogene Menge <i>Tinctura</i> <i>Aconitin</i> in g	Verwendete Menge Aether in g	Ab- gewogene Menge Aether in g		0,01 n Schwefel- säure in cm ³	%-Gehalt Alkaloide als <i>Aconitin</i> berechnet	0,01 n Natronlauge in cm ³	%-Gehalt <i>Benzoylaconin</i>	%-Gehalt <i>Aconitin</i> bezogen auf Gesamtalkaloide
1	25	100	95	23,75	1,84	0,0501 (1,88)	2,22	79,08 (54,45)	20,98 (45,55)
2	25	100	94	23,50	1,82	0,0499 (1,95)	2,21	78,79 (54,15)	21,21 (45,85)
3	25	100	96	24,00	1,82	0,0489	2,20	78,58	21,42
4	50	100	94	47,00	3,72	0,0510	4,50	79,11	20,89
5	50	100	93	46,50	3,63	0,0504	4,39	78,95	21,05
6	50	100	95	47,50	3,69	0,0501	4,47	78,78	21,22
7	75	100	97	72,75	5,86	0,0520	7,09	79,07	20,93
8	75	100	93	69,75	5,37	0,0497	6,53	78,32	21,68
9	75	100	93	69,75	5,31	0,0491	6,46	78,29	21,71
10	100	100	94	94,00	7,56	0,0520	9,15	78,92	21,08
11	100	100	95	95,00	7,47	0,0507	9,10	78,13	20,87
12	100	100	96	96,00	7,52	0,0505	9,10	79,04	20,96

*Bestimmung des wahren Aconitingehaltes von Granula
mittels der Wasserdampfbestimmungsmethode*

Zu dieser Untersuchung wurden drei verschiedene Proben von Aconitin Granula verwendet, welche im Handel erhältlich sind. Jedes dieser Granula weist einen deklarierten Gehalt an Aconitin von 0,1 g auf. Von jeder Handelsorte wurden je vier Bestimmungen ausgeführt, welche sich, wie aus den Resultaten ersichtlich ist, in ihrem reellen Aconitingehalt klar voneinander unterscheiden.

Die Bestimmung wurde wie folgt ausgeführt:

Je 100 Granula werden in 10 cm³ aufgeschwemmt, mit 2,5 cm³ 25 %igem Ammoniak alkalisch gemacht und fünfmal mit je 20 cm³ Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösungen werden vereinigt und der Äther auf dem Wasserbad abdestilliert. Der Rückstand wird mit 10 cm³ Alkohol gelöst und mit 0,01 n Schwefelsäure titriert. (Vorgängig muss mit dem Alkohol ein Blindversuch ausgeführt werden.) Die restliche Bestimmung wird analog der Extraktmethode ausgeführt.

Da diese Präparate verschiedener Provenienz sind, fragt es sich, ob es ein reiner Zufall war, dass diese drei Proben ihrem deklarierten Aconitinwert nicht entsprechen.

Wie in der Tabelle auf Seite 65 ersichtlich ist, geht aus den Resultaten hervor, dass der Aconitingehalt, berechnet auf den deklarierten Wert zwischen 74 und 83 % schwankt.

Es wäre von Interesse, ausfindig zu machen, ob diese Wertabnahme auf ein unreines Aconitin zurückzuführen ist, welches zur Darstellung der Präparate verwendet wurde oder ob auch hier durch längere Lagerung der Aconitingehalt abgenommen hat. Eine weitere Möglichkeit, den Aconitinverlust zu erklären, besteht eventuell darin, dass bei der Herstellung der Granula durch den Flüssigkeitszusatz eine Hydrolyse eingetreten ist.

Da sich bei Extrakt und Tinktur gute Übereinstimmung mit den toxikologischen Wertbestimmungen ergeben hatte, wurde hier auf eine biologische Auswertung verzichtet.

Tabelle Nr. X

Bestimmungsergebnisse

Versuch Nr.	Je 100 Granula entsprechend g Aconitin	Vor der Wasserdampfdestillation		Nach der Wasserdampfdestillation		
		entsprechend 0,01 n Schwefelsäure in cm ³	entsprechend g Alkaloid als Aconitin berechnet	0,01 n Natronlauge in cm ³	‰-Gehalt Benzoyl- aconitin	‰-Gehalt Aconitin
1	0,01	1,55	0,010	2,69	26,76	73,24
2	0,01	1,71	0,011	2,97	26,34	73,66
3	0,01	1,40	0,009	2,43	26,47	73,53
4	0,01	1,55	0,010	2,70	26,19	73,81
5	0,01	1,86	0,012	3,38	18,56	81,44
6	0,01	1,71	0,011	3,10	18,71	81,29
7	0,01	1,40	0,009	2,55	18,23	81,77
8	0,01	1,86	0,012	3,38	18,48	81,52
9	0,01	1,55	0,010	2,74	23,18	76,82
10	0,01	1,24	0,008	2,19	23,37	76,63
11	0,01	2,02	0,013	3,57	23,21	76,79
12	0,01	1,71	0,011	3,02	23,30	76,70

Präparat 1 umfasst die Versuche Nr. 1 bis 4
 Präparat 2 umfasst die Versuche Nr. 5 bis 8
 Präparat 3 umfasst die Versuche Nr. 9 bis 12

*Anwendung der Wasserdampfdestillationsmethode
zur Wertbestimmung von Tuber Aconiti*

Zu den Untersuchungen wurden Proben derselben Droge verwendet, aus welcher das Aconitextrakt hergestellt worden war.

Zu jeder Bestimmung wurden 5 g Tuber Aconiti pulv. (VI) verwendet und im übrigen genau nach der Vorschrift der Extraktbestimmung vorgegangen.

Die auf Seite 67 angeführten Resultate zeigen, dass bereits die Gesamtalkaloidwerte durch die raschere Extraktion höhere Werte ergaben, als bei der Bestimmung nach Ph. H. V.

Wasserdampfdestillationsbestimmung von Tuber Aconiti Ph. H. V.

Versuch Nr.	Einwäge			entsprechend g Tuber Aconiti, die zur Bestimmung gelangen	Vor der Wasserdampf- destillation		Nach der Wasserdampfdestillation		
	Eingewogene Menge Tuber Aconiti	Verwendete Menge Aether in g	Abgewogene Menge Aether in g		0,01 n Schwefel- säure in cm ³	%-Gehalt Alkaloide als Aconitin berechnet	0,01 n Natronlauge in cm ³	%-Gehalt Benzoyl- aconitin bezogen auf Gesamtalkaloide	%-Gehalt Aconitin
1	5,0	100	80	4,00	5,52	0,89	8,52	55,64	44,36
2	5,0	100	82	4,10	5,59	0,88	8,60	56,15	43,85
3	5,0	100	82	4,10	5,78	0,91	8,91	55,90	44,10
4	5,0	100	83	4,15	5,72	0,90	8,82	55,65	44,35
5	5,0	100	80	4,00	5,58	0,90	8,59	56,10	43,90
6	5,0	100	82	4,10	5,66	0,89	8,73	55,73	44,27

IV. TOXIZITÄTSBESTIMMUNGEN AN WEISSEN MÄUSEN ZUR KONTROLLE DER CHEMISCHEN BESTIMMUNGSMETHODE VON ACONITIN AUS DEN GESAMTALKALOIDEN

Neben der chemischen Methode ist in verschiedenen Pharmakopöen die physiologische Wertbestimmung obligatorisch. Die amerikanische Pharmakopöe geht sogar so weit, dass sie die chemische Methode völlig weglässt und nur noch die Toxizitätsbestimmung als gültig erklärt.

Die amerikanische Pharmakopöe und auch *Goris und Liot*¹⁾ verwenden zur Toxizitätsbestimmung Meerschweinchen, an welchen die DL 50 bestimmt wird.

Auf eine andere Möglichkeit zur Bestimmung der Toxizität verwiesen bereits *Broom und seine Mitarbeiter*²⁾, indem sie zu ihren Untersuchungen Mäuse verwendet haben.

Basierend auf die Arbeiten von *Hoppe und Mollet*³⁾ sowie von *Rowe*⁴⁾ wurden zur Kontrolle der in dieser Publikation ausgearbeiteten chemischen Methoden mit Aconitin, Extractum Aconiti und Tinctura Aconiti Ph. H. V. toxikologische Bestimmungen mit weissen Mäusen ausgeführt. Da die Meerschweinchenmethode zwar genau, aber sehr kostspielig ist, war es geeigneter, die Bestimmungen mit Mäusen auszuführen.

Der einzige Unterschied in der Mäusemethode beruht darin, dass die Injektion intraperitoneal ausgeführt wird, wogegen die Meerschweinchenmethode subkutane Injektionen vorsieht.

¹⁾ *Goris et Liot*, Pharmacie Galénique, Tome I, Paris, S. 803 ff. (1942).

²⁾ *W. A. Broom und Mitarbeiter*, Quart. Journ. of Pharm. and Pharmacol. 5, S. 32 ff. (1932).

³⁾ *J. O. Hoppe and C. E. F. Mollet*, Journ. Americ. Pharm. Assoc. Scientific Edition, 32, 215 ff. (1943).

⁴⁾ *L. W. Rowe*, Journ. Americ. Pharm. Assoc., 14, 968, (1925).

Die von *Goris* ausgearbeitete Methode bestimmt die minimale Dosis an Meerschweinchen, welche innerhalb einer bestimmten Zeitspanne zum Tode führt. Die Mäusemethode bietet hier insofern einen Vorteil, als an mehreren Mäusen (in unseren Versuchen fünf bis zehn) jeweils die gleiche Dosis injiziert wird und durch Steigerung der Dosis die DL 50 bestimmt wird. Zur Bestimmung des wirklichen Aconitingehaltes in den galenischen Präparaten musste daher zuerst eine Toxizitätsbestimmung mit Aconitin allein durchgeführt werden. An Hand der erhaltenen Resultate, welche ziemlich genau mit den Resultaten von *Hoppe und Mollet* übereinstimmen, wurde dann der Aconitingehalt in der Tinktur und im Extrakt bestimmt. Die Lösungen des Extraktes und der Tinktur, welche zur Injektion verwendet wurden, waren jeweils so eingestellt worden, dass sie einem bestimmten Gehalt an Gesamtalkaloiden entsprachen. Der Gesamtalkaloidgehalt wurde basierend auf der Tatsache berechnet, dass der Extrakt einem solchen von 1,9 %, die Tinktur einem Gehalt von 0,05 % entspricht. Die DL 50 wurde als diejenige Dosis definiert, welche 50 % der injizierten Mäuse innert 24 Stunden nach der Injektion tötet.

Die zur Bestimmung verwendeten Mäuse wiesen ein Gewicht von 17 bis 21 g auf und waren alle vom gleichen Geschlecht. Ausserdem wurde darauf geachtet, dass die klimatischen und Ernährungsbedingungen überall gleich waren. Um nicht zu grosse Dosen injizieren zu müssen, wurden die Lösungen so eingestellt, dass pro 20 g Maus höchstens 1,5 cm³ Lösung verwendet wurden. Um möglichst genaue Resultate zu erhalten, sahen wir uns genötigt, die zur Untersuchung gelangte Dosis mehreren Mäusen zu injizieren. Die Versuchsserien wurden jeweils so ausgeführt, dass zuerst drei bis vier niedrigere Dosen als die chemisch berechneten verwendet wurden. Sobald der Bereich des wahren Aconitingehaltes sich näherte, wurden pro Dosis zehn Mäuse verwendet. Es ist zu vermuten, dass diese Auswertungsmethode durch die erhöhte Anzahl der Tiere günstiger ist als die Meerschweinchenmethode, welche nur mit zwei bis drei Tieren pro Dosis arbeitet. Aus den Beobachtungen während unserer Versuche war deutlich ersichtlich, dass die Reaktion und vor allem die Widerstandskraft der Tiere sehr variabel ist. So wurde unter anderem festgestellt, dass Tiere, welche über längere Zeit hinaus deutliche Aconitinvergiftungssymptome aufwiesen, sich sehr häufig nach einigen Stunden erholten. Andere Tiere wiesen eine viel weniger heftige

Reaktion auf, doch trat der Tod dann plötzlich ein. Obschon das Verhalten der Tiere sich bei der Injektion von reinem Aconitin sehr stark von der Reaktion bei Tinktur oder Extrakt unterscheidet (wie dies bei den einzelnen Versuchen weiter beschrieben wird), ist der Einfluss der Ballaststoffe auf die toxische Wirkung scheinbar so gering, dass die DL 50 praktisch mit den reinen Aconitinwerten übereinstimmt.

Da in den galenischen Präparaten, die zu toxikologischen Wertbestimmung gelangten, jeweils auch Benzoylaconin und Aconin vorkommen, ist damit deutlich erwiesen, dass deren Toxizität, verglichen mit Aconitin, praktisch unbedeutend ist. Nach den Angaben verschiedener Autoren soll die Toxizität von Benzoylaconin 400- bis 500mal geringer als die von Aconitin, diejenige des Aconins 3000- bis 4000mal geringer sein. Damit lässt sich auch die Wirkungslosigkeit des Benzoylaconins und Aconins in unseren Toxizitätsbestimmungen erklären, da bekanntlich mit sehr niedrigen Dosen gearbeitet wurde.

Beobachtungen bei den Toxizitätsbestimmungen

1. Verhalten der Tiere bei intraperitonealer Injektion von reinem Aconitin

Da sämtliche Tiere ein Gewicht von 16 bis 20 g aufweisen, sind die Dosierungsunterschiede minim. Die Tiere, sämtliche aus der gleichen Zucht, sind ungefähr gleichaltrig. Zur Akklimatisierung wurden sie mehrere Tage vor Beginn der Toxizitätsbestimmungen am selben Ort bei einer Durchschnittstemperatur von 18 bis 20° unter gleichen Nahrungsbedingungen gehalten.

Die Injektionslösungen wurden jeweils vor Beginn des Testes frisch zubereitet. Die Lösung wurde folgendermassen hergestellt:

0,050 g Aconitin wurden in 10 cm³ 0,1 n Schwefelsäure gelöst, 1 cm³ dieser Lösung wurde mit 100 cm³ physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und diese Lösung als Injektionslösung verwendet. Die Tiere der einzelnen Versuchsreihen wurden einzeln gewogen, und nach der Wägung erfolgte sofort die Injektion. Das Verhalten

der Tiere war meist sehr ähnlich: die behandelten Tiere wurden in einem separaten Kasten gehalten. Zwei bis drei Minuten nach der Injektion wurden die Mäuse sehr unruhig, am Körper, vor allem an den hinteren Extremitäten, waren Zuckungen festzustellen, welche aber sehr rasch abnahmen. Darauf erfolgte sichtbar Atemnot. Die Atmung wurde ruckartig, die Bewegungen der Tiere immer langsamer und erfolgten stossweise. Es trat sogenannte Schnappatmung ein. Ein weiteres, sehr auffälliges Merkmal waren die dunklen Verfärbungen von Augen und Zunge, welche ursprünglich hellrot waren. Innerhalb dieser Zeit wurde die Beweglichkeit des Tieres stark reduziert, da die hinteren Extremitäten völlig gelähmt waren; die Vorwärtsbewegungen erfolgten nur noch sehr langsam auf dem Bauche kriechend. Nach ungefähr 20 Minuten erfolgten plötzlich einige heftige Atemstösse mit gleichzeitigem schwachem Sekretauswurf. Kurz darauf war keine Atmung mehr festzustellen. Das Tier lag nun meist auf dem Rücken und nach einigen heftigen, ruckartigen Bewegungen der Extremitäten trat Exitus ein.

Es wurde mehrmals versucht, kurz vor dem Tode die Tiere durch künstliche Atmung zur Reaktion zu veranlassen. Der Erfolg war jedoch sehr gering. Ausser einigen schwachen Bewegungen der vorderen Extremitäten war nichts festzustellen. Die Haltung der Tiere nach dem Exitus war immer genau gleich. Die hinteren Extremitäten waren weit ausgestreckt, die vorderen fest an den Körper angezogen. Eine interessante Ausnahme haben wir in der ersten Versuchsreihe feststellen können: Ein Tier, das die fünffache Dosis der Lösung injiziert erhalten hatte, wies alle diese vorher beschriebenen Merkmale nur sehr schwach auf und erholte sich sichtbar nach rund 12 Stunden. Exitus trat nicht ein.

Das Verhalten der zweiten Versuchsreihe war analog der ersten, doch dauerte die Zeit bis zum Exitus etwa 30 bis 40 Minuten im Durchschnitt. Zwei Tiere dieser Versuchsreihe bildeten insofern eine Ausnahme, als sie sich nach ungefähr 30 Minuten sichtbar erholten. Die Lähmung der hinteren Extremitäten war völlig aufgehoben, die Atmung wurde wieder regelmässiger, und die Tiere bewegten sich beinahe wie vor der Injektion. Nach 50 Minuten traten bei einer der beiden Mäuse plötzlich starke Krämpfe am ganzen Körper ein, und innert einer Minute erfolgte völlig überraschend der Exitus. Das

Verhalten ist also hier ganz im Gegensatz zu den üblichen Beobachtungen. Das andere Tier erholte sich nicht völlig, die Bewegung war längere Zeit langsam, doch blieb dieses Tier am Leben.

Toxizitätsbestimmungen mit Aconitin

Dosis pro g Tier in mg	Dosis pro 20 Tier in mg	Anzahl der injizierten Mäuse	Lebende Mäuse	Exitus	% Letalität	Datum
0,00025	0,0050	5	5	—	0	23. 3. 49
0,00025	0,0050	5	5	—	0	27. 4. 49
0,00035	0,0070	5	5	—	0	30. 3. 49
0,00035	0,0070	5	5	—	0	27. 4. 49
0,00037	0,0074	10	7	3	30	27. 4. 49
0,00040	0,0080	10	6	4	40	25. 3. 49
0,00041	0,0082	10	5	5	50	30. 3. 49
0,00043	0,0086	10	1	9	90	27. 4. 49
0,00045	0,0090	5	—	5	100	27. 4. 49
0,00050	0,0100	10	1	9	90	23. 3. 49
0,00050	0,0100	5	—	5	100	27. 4. 49

Zum Vergleich der von uns erhaltenen Werte geben wir noch einen Ausschnitt aus den Bestimmungen von *Hoppe und Mollet* an:

Dosis in mg pro g Körpergewicht	Lebend	Tot	% Letalität
0,000350	9	5	35,7
0,000353	0	1	100,0
0,000375	9	7	43,7
0,000400	17	12	41,3
0,000405	1	1	50,0
0,000425	5	9	64,3
0,000450	3	9	75,0

Aus dem Resultat ist ersichtlich, dass die von *Hoppe und Mollet* angegebene DL 50 0,000405 mg, unsere aber 0,000410 mg beträgt.

2. Verhalten der Tiere bei intraperitonealer Injektion von *Extractum Aconiti*

Die Versuche erfolgten unter genau denselben Bedingungen, wie bei den Aconitinbestimmungen. Die Stammlösung wurde folgendermassen hergestellt: 0,27 g *Extractum Aconiti* wurden in 5 cm³ *Spiritus dilutus* gelöst. Von dieser Lösung wurde 1 cm³ mit 100 cm³ physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und als Standardlösung zur Injektion verwendet. Der Alkoholgehalt dieser Lösung beträgt 0,7 %. Dieser Gehalt ist so minim, dass kein Einfluss auf die Tiere zu erwarten war. Zur Kontrolle wurden an zwei Tieren mit je 1 cm³ Kochsalzlösung plus 0,7 % *Spiritus* Injektionen vorgenommen, doch war keine Wirkung zu beobachten. Nach der Injektion der Extraktlösung war das Verhalten der Tiere von Anfang an anders als bei der Injektion von reinen Aconitinlösungen. Innerhalb der ersten zehn Minuten trat überhaupt keine Änderung im Verhalten ein. Kurze Zeit darauf aber bewegten sich die Mäuse viel langsamer und blieben sogar längere Zeit (etwa 30 Minuten) völlig ruhig. Nun traten zuerst schwache, dann allmählich deutlicher sichtbare Zuckungen am ganzen Körper auf. Die Tiere wurden unruhig, die Atmung wurde unregelmässig und stossweise, doch viel weniger heftig als bei reinem Aconitin. Die Tiere hatten auffällig das Bestreben, sich möglichst auf den hinteren Extremitäten aufrecht zu halten. Die Atmung schien sehr mühsam zu sein, und die Zuckungen am ganzen Körper hielten dauernd an. Im Gegensatz zu den «Aconitintieren» trat aber bis zum Exitus überhaupt keine Lähmung der hinteren Extremitäten auf. Sämtliche Reaktionen waren viel weniger heftig als bei den Aconitin-Injektionen, doch dauerten sie viel länger an. Gegen das Ende zu wurden die Tiere wieder ziemlich ruhig, ausser der unregelmässigen Atmung konnten keine weiteren abnormalen Reaktionen beobachtet werden. Kurz vor dem Exitus nahm die Atmung immer mehr ab, die Tiere bewegten sich praktisch kaum mehr, und es konnte nur ein schwacher Sekretausswurf beobachtet werden. Danach trat Exitus ein. Der erste Exitus erfolgte nach 50 Minuten, der zweite nach 55 Minuten. Krämpfe oder Zuckungen der Extremitäten waren nirgends festzustellen. Das ganze Verhalten der Tiere steht also in völligem Gegensatz zu den Aconitinversuchsreihen. Es ist kaum anzunehmen, dass diese verschiedenartige Reaktion auf einen Gehalt an Benzoylaconin oder Aconin zurückzuführen ist. Viel eher kann

angenommen werden, dass die Wirkung der Ballaststoffe des Extraktes als Hauptursache für diese qualitativ andersgeartete Wirkung anzusehen ist.

Dosis pro g Tier in mg Alkaloide	Dosis pro 20 g Tier in mg	Anzahl der injizierten Mäuse	Lebende Mäuse	Exitus	% Letalität	Datum
0,00050	0,01000	10	9	1	10	24. 3. 49
0,00055	0,01100	5	5	—	0	25. 3. 49
0,00050	0,01200	5	5	—	0	25. 3. 49
0,00075	0,01500	5	4	1	20	25. 3. 49
0,00075	0,01500	5	3	2	40	25. 3. 49
0,00085	0,01700	5	4	1	20	25. 3. 49
0,00085	0,01700	10	6	4	40	28. 4. 49
0,00090 *	0,01800	10	5	5	50	25. 3. 49
0,00100	0,02000	5	2	3	60	28. 4. 49
0,00100	0,02000	5	—	5	100	30. 3. 49

*) Die DL 50 liegt also hier bei 0,018 mg Gesamtalkaloide pro 20 g Maus. Die chemische Wertbestimmung hatte ergeben, dass der Aconitingehalt der Gesamtalkaloide etwa 46 % beträgt. Daraus errechnet sich eine DL 50 für Aconitin von 0,00082 mg pro 20 g Maus. Dieser Wert stimmt genau mit dem für reines Aconitin ermittelten überein.

3. Verhalten der Tiere bei intraperitonealer Injektion von *Tinctura Aconiti*

Das Verhalten der Versuchstiere gegenüber der Tinktur ist sehr ähnlich den Beobachtungen, welche beim Extrakt gemacht worden waren. Da aber hier noch ein gewisser Alkoholgehalt in der Injektionslösung vorhanden ist, musste in möglichst grossen Verdünnungen mit physiologischer Kochsalzlösung gearbeitet werden. Die Tiere waren nach der Injektion relativ ruhiger als bei den beiden anderen Versuchsserien. Bis zum Exitus war die Schnappatmung bedeutend weniger heftig aber viel länger andauernd. Im Gegensatz zum Extrakt und zum reinen Aconitin trat hier der Tod verschiedentlich erst nach fünf bis sechs Stunden ein, was die äusserste Grenze ist, welche wir bei den Toxizitätsbestimmungen festgestellt haben. Die hier in

dieser Tabelle angegebenen Alkaloidwerte sind natürlich bedeutend höher als beim Extrakt. Da uns diese Tatsache aus der chemischen Bestimmung bereits bekannt war, wurde von Anfang an eine bedeutend grössere Menge Alkaloide injiziert.

Dosis pro g Tier in mg Alkaloide	Anzahl der injizierten Mäuse	Lebende Mäuse	Exitus	% Letalität	Datum
0,0308	10	10	—	0	3. 5. 49
0,0346	10	8	2	20	3. 5. 49
0,0378 *	10	5	5	50	3. 5. 49
0,0391	10	4	6	60	3. 5. 49
0,0405	10	2	8	80	3. 5. 49

*) Die DL 50 liegt hier bei 0,0378 mg Gesamtalkaloide pro 20 g Maus. Die chemische Wertbestimmung hatte ergeben, dass die Gesamtalkaloide der Tinktur rund 21 % Aconitin enthalten, woraus sich eine DL 50 des Aconitins von 0,00794 mg pro 20 g Maus errechnet, was ebenfalls mit der DL 50 von reinem Aconitin von 0,0082 mg pro 20 g Maus äusserst gut übereinstimmt.

An Hand dieser toxikologischen Überprüfung geht nun hervor, dass sich die vorgeschlagene chemische Wertbestimmung für die Beurteilung der Wirksamkeit von Aconitpräparaten sehr gut eignet, indem die chemisch und toxikologisch ermittelten Aconitinwerte innerhalb der Fehlergrenze gleiche Resultate ergeben.

V. ZUSAMMENFASSUNG DER RESULTATE

1. Es wurden Methoden zur Herstellung von reinem, kristallinem Aconitin, Benzoylaconin und Aconin ausgearbeitet.
2. Es wurde eine Herstellungsmethode für ein Extractum Aconiti beschrieben.
3. Die bisherigen Bestimmungsmethoden der Gesamtalkaloide und die getrennte Bestimmung von Aconitin und Benzoylaconin wurden überprüft.

Die Gesamtalkaloidbestimmung konnte verbessert werden.

Für die getrennte Bestimmung von Aconitin und Benzoylaconin wurde eine völlig neue Methode ausgearbeitet.

4. Ein Vergleich der chemischen Wertbestimmungsmethode mit der biologischen Aconitinbestimmungsmethode an weissen Mäusen ergab vollständig übereinstimmende und zuverlässige Resultate.
5. Es konnte aufgezeigt werden, dass Tinctura Aconiti Ph.H.V. innerhalb eines Jahres rund 50 % ihrer Wirkung, resp. ihres Aconitingehaltes einbüsst.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. Einleitung	5
II. Darstellung von reinem, kristallinem Aconitin	9
Darstellung von Benzoylaconin	10
Darstellung von Aconin	20
Darstellung der Tinctura Aconiti und des Extractum Aconiti	29
III. Chemische Wertbestimmungen des Extractum Aconiti	31
Bestimmung der Gesamtalkaloide	31
Getrennte Untersuchungen von Aconitin und Benzoylaconin	39
a) Bisherige Untersuchungen	39
b) Eigene Untersuchungen	42
IV. Toxizitätsbestimmung	68
V. Zusammenfassung	76

